

## ORIGINALAN RAD – ORIGINAL PAPER

UDK 619:546.791:616.155.1:636.2/3

**REZULTATI PREGLEDA CRVENE KRVNE SLIKE OVACA I  
KRAVA SA PODRUČJA BOMBARDOVANIH MUNICIJOM SA  
OSIROMAŠENIM URANIJUMOM\*****RESULTS OF ANALYSIS OF RED BLOOD CELLS IN COWS AND  
SHEEP IN AREAS EXPOSED TO ATTACK USING DEPLETED  
URANIUM AMMUNITION****S. Jović, Jelka Stevanović, Milica Kovačević-Filipović, Dragana Popović,  
Tatjana Božić\*\***

*U radu smo naveli rezultate preliminarnih ispitivanja crvene krvne slike ovaca i krava uzgajanih na terenima koji su bili izloženi dejstvu municije sa osiromašenim uranijumom, tokom NATO bombardovanja 1999. godine. Uzorci krvi, zemlje, vegetacije i hraniva prikupljeni su tokom 2003. godine.*

*Rezultati pokazuju da ovce koje potiču sa terena bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom imaju značajno manji broj eritrocita ( $p < 0.001$ ) i koncentraciju hemoglobina ( $p < 0.001$ ), kao i nižu hematokritsku vrednost ( $p < 0.001$ ), nego kod životinja kontrolne grupe koje nisu sa ovog područja. Izračunati hematološki indeksi (MCV i MCHC) ukazuju da ovce sa ispitivanog područja imaju makrocitnu hipohromnu anemiju.*

*Krave koje potiču sa istih lokacija, takođe, imaju značajno manji broj eritrocita ( $p < 0.001$ ), koncentraciju hemoglobina ( $p < 0.05$ ) i značajno nižu hematokritsku vrednost ( $p < 0.05$ ) od krava iz kontrolne grupe, i na granici su anemičnog stanja. Izračunati hematološki indeksi ukazuju da su eritrociti krava sa ovog područja normalne veličine i da su normalno punjeni hemoglobinom.*

*U svim ispitanim uzorcima zemljišta, vegetacije i hraniva, sadržaj <sup>235</sup>U je bio ispod minimalne merne koncentracije (MDC), dok su se izmerene koncentracije ostalih prirodnih i proizvedenih radionuklida (<sup>137</sup>Cs) nalazile u opsegu srednjih vrednosti izmerenih u uzorcima zemljišta u regionu, osim znatno nižih koncentracija <sup>40</sup>K.*

*Ključne reči: osiromašeni uranijum, krave, ovce, eritrociti, hemoglobin, hematološki indeksi*

\* Rad primljen za štampu 18. 3. 2004. godine

\*\* Slavoljub Jović, asistent pripravnik, Katedra za fiziologiju; dr Jelka Stevanović, vanredni profesor, Katedra za fiziologiju; mr Milica Kovačević-Filipović, asistent, Katedra za patološku fiziologiju; dr Dragana Popović, redovni profesor, Katedra za fiziku; dr Tatjana Božić, redovni profesor, Katedra za patološku fiziologiju, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

## Uvod / Introduction

Više lokacija na jugu Srbije, koje uglavnom obuhvataju obradivo zemljište i zemljište pod pašnjacima, uključujući i područja opštine Bujanovac u kojima smo obavili naša istraživanja, bilo je bombardovano projektilima sa osiromašenim uranijumom tokom NATO agresije na našu zemlju, 1999 godine [3]. Uranijum je visoko hemijski toksičan i srednje radiotoksičan element, i kao hemijski veoma aktivan, brzo prodire u zemljište [6], odakle ga biljke lako preuzimaju i uključuju u „lanac ishrane” [13, 14]. Uranijum se u organizam životinja unosi vodom, hranom i vazduhom [16], a krvotokom se raznosi do svih ćelija [4]. U samom krvotoku ga najviše ima u eritrocitima [2].

Dugotrajno izlaganje malim dozama osiromašenog uranijuma ne izaziva direktne štete, već dovodi do jonizacije molekula i stvaranja slobodnih kiseonikovih radikala [1, 9, 10]. Povećane količine slobodnih kiseonikovih radikala oštećuju lipidne i proteinske molekule ćelijskih membrana [9, 10], i mogu da budu uzrok ubrzanog propadanja svih ćelija životinjskog organizma što ima kao posledicu različite patološke promene i manifestacije tih promena.

U ovom radu dat je prikaz analize crvene krvne slike krava i ovaca koje potiču sa područja bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom, kao i sadržaja radionuklida u uzorcima zemljišta, vegetacije i hraniva, sa ispitivanih terena.

## Materijal i metode rada / Materials and methods

Tokom 2003. godine sa šest lokacija u okolini Bujanovca, koje su 1999. godine bombardovane projektilima sa osiromašenim uranijumom, prikupljeni su uzorci zemljišta, vegetacije, hraniva i krvi. Uzorci krvi su uzeti od 20 klinički zdravih krava (buša u tipu simentalca, uzrasta od 6 do 15 godina) i 20 ovaca (merino/svrljig, u uzrastu od 3 do 6 godina), koje su činile ispitivanu grupu. Kontrolnu grupu je činilo 10 krava i 10 ovaca izvan ovih lokacija (iste rase, starosti, načina ishrane i drugog). Krv je uzeta punkcijom jugularne vene, uz upotrebu Nacitrata kao antikoagulansa.

Koncentracija hemoglobina određena je spektrofotometrijski, Spectord M-40, na 540 nm [14]. Ukupni broj eritrocita je utvrđen upotrebom Hayemovog rastvora za razblaživanje i brojanjem u Spencerovoj komorici. Hematokritska vrednost određena je mikrohematokritskom metodom. Hematološki indeksi, prosečna zapremina eritrocita (MCV) i prosečna koncentracija hemoglobina po eritrocitu (MCHC) izračunati su na osnovu podataka za broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina i hematokritsku vrednost. Dobijeni rezultati su prikazani kao srednje vrednosti  $\pm$  standardna greška ( $MV \pm SE$ ). Aktivnost radionuklida u zemljištu, vegetaciji i hranivima određena je standardnom metodom spektrometrije

gama zračenja (HPGe detektor, ORTEC, relativna efikasnost 23%, vreme merenja 61.000-67.500 s).

### Rezultati rada / Results

Rezultati pregleda krvne slike ovaca i krava sa područja izloženih dejstvu municije sa osiromašenim uranijumom prikazani su u tabeli 1 i 2. Ovi rezultati ukazuju da ovce koje potiču sa terena bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom (ispitivana grupa) imaju značajno manji broj eritrocita ( $p < 0.001$ ) i koncentraciju hemoglobina ( $p < 0.001$ ), kao i da im je hematokritska vrednost značajno niža nego kod kontrolne grupe ( $p < 0.001$ ). Izračunati MCV i MCHC indeksi ukazuju da su eritrociti ovaca sa ispitivanog područja veći od normalnih i da su slabo punjeni hemoglobinom (tabela 1).

Tabela 1. Broj eritrocita (Er), koncentracija hemoglobina (Hb), hematokritska vrednost (Ht), MCV i MCHC indeksi ispitivane i kontrolne grupe ovaca /  
Table 1. Number of sheep erythrocytes (Er), hemoglobin concentration (Hb), packed cell volume (Ht), MCV i MCHC indexes in experimental and control group

Parametar / Parameter	Ovce / Sheep	
	Ispitivana grupa / Examined group (n=20)	Kontrolna grupa Control group (n=10)
Statistika / Statistics	MV $\pm$ SE	MV $\pm$ SE
Er $\times 10^{12}/L$	5.41 $\pm$ 0.18***	10.95 $\pm$ 1.03
Hb g/L	78.7 $\pm$ 2.18***	115 $\pm$ 3.87
Ht %	26.7 $\pm$ 0.7***	35.1 $\pm$ 1.57
MCV fL	45 $\pm$ 1.7***	38 $\pm$ 1.4
MCHC g/L	275 $\pm$ 14***	333 $\pm$ 17

Srednja vrednost (MV)  $\pm$  standardna greška (SE); Značajnost: \* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$  /  
Values expressed as MV  $\pm$  SE; Significance at \* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$  vs. control group

Krave koje potiču sa terena bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom (ispitivana grupa) imaju značajno manji broj eritrocita ( $p < 0.001$ ), koncentraciju hemoglobina ( $p < 0.05$ ) i hematokritsku vrednost ( $p < 0.05$ ), nego krave kontrolne grupe. Izračunati hematološki indeksi MCV i MCHC ukazuju da su im eritrociti normalne veličine i da su normalno punjeni hemoglobinom (tabela 2).

Tabela 2. Broj eritrocita (Er), koncentracija hemoglobina (Hb), hematokritska vrednost (Ht), MCV i MCHC indeksi ispitivane i kontrolne grupe krava /  
Table 2. Number of cows erythrocytes (Er), hemoglobin concentration (Hb), packed cell volume (Ht), MCV i MCHC indexes in experimental and control group

Parametar / Parameter	Krave / Cows	
	Ispitivana grupa / Examined group (n=20)	Kontrolna grupa / Control group (n=10)
Statistika / Statistics	MV ± SE	MV ± SE
Er x10 <sup>12</sup> /L	5.4 ± 0.2***	7.0 ± 0.1
Hb g/L	95.4 ± 0.2*	110.0 ± 4.9
Ht %	29 ± 0.6*	35.0 ± 2.2
MCV fL	54 ± 3.7 NS	50 ± 3.5
MCHC g/L	345 ± 25.3 NS	325 ± 27.3

Srednja vrednost (MV) ± standardna greška (SE); Značajnost: \*p<0.05; \*\*\*p<0.001  
Values expressed as MV ± SE; Significance at \*p<0.05; \*\*\*p<0.001 vs. control group  
NS – nema značajnosti (p>0.05) / NS – not significant (p>0.05)

U svim ispitanim uzorcima zemljišta, aktivnost <sup>235</sup>U je bila ispod minimalne merne koncentracije za uranijum (10<sup>-3</sup> Bq/kg), dok su se izmerene koncentracije ostalih prirodnih i proizvedenih radionuklida (<sup>137</sup>Cs) nalazile u opsegu srednjih vrednosti za različite tipove zemljišta u regionu, osim znatno nižih koncentracija <sup>40</sup>K [15]. Sadržaj radionuklida u uzorcima vegetacije i hraniva, osim za <sup>40</sup>K, takođe je bila niža od minimalnih mernih koncentracija (10<sup>-3</sup> Bq/kg).

## Diskusija / Discussion

Prikazani rezultati su deo većeg projekta kojim su obuhvaćena ispitivanja hematoloških, biohemijskih i citogenetskih parametara kod životinja uzgajanih na terenima izloženim dejstvu municije sa osiromašenim uranijumom, kao i ispitivanja sadržaja osiromašenog uranijuma na ovom području. Iako dosadašnja merenja sadržaja radionuklida u uzorcima zemljišta, vegetacije i hraniva nisu ukazala na prisustvo osiromašenog uranijuma u životnoj sredini na datim lokacijama, ovo još nije siguran dokaz da osiromašeni uranijum nije ušao u široki lanac ishrane.

Ispitivanja crvene krvne slike ovaca i krava sa terena bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom ukazuju na značajne promene u odnosu na kontrolne životinje. Ovce sa ovih terena imale su skoro dvostruko manji broj eritrocita, uz značajan pad koncentracije hemoglobina i hematokritske vrednosti. Izračunati hematološki indeksi ukazuju da je kod ovaca prisutna makrocitna hipohromna anemija. Ustanovljena makrocitoza bi mogla da bude posledica pri-

sustva većeg broja retikulocita u perifernoj krvi, što najverovatnije ukazuje na postojanje regenerativne anemije i govori u prilog tome da bi kostna srž ovih životinja mogla da kompenzuje ustanovljenu anemiju.

Isti hematološki parametri za krave, prikazani kao prosečne vrednosti, na donjoj su granici fiziološkog opsega [7, 11]. Međutim, deo ispitivanih životinja je ipak imao vrednosti hematoloških parametara koji ukazuju na anemiju (pojedinačni rezultati nisu prikazani).

Kod ispitivanih ovaca i krava utvrđeno je postojanje oksidativnog stresa, odnosno pojačana proizvodnja slobodnih kiseonikovih radikala [neobjavljeni rezultati, Stevanović i sar.]. Jedan od uzroka ustanovljene anemije bi moglo da bude i oštećenje membrane eritrocita slobodnim kiseonikovim radikalima. Ovakav nalaz je u skladu sa podacima iz literature po kojima eritrociti izloženi oksidativnom stresu brže podležu hemolizi [2]. Međutim, pojačano stvaranje slobodnih kiseonikovih radikala nije specifičan pokazatelj dejstva niskih doza osiromašenog uranijuma, već se javlja i kod delovanja različitih drugih štetnih agenasa [8, 9, 10]. Za potvrdu pretpostavke da hronično izlaganje malim dozama jonizujućeg zračenja, kao posledica prisustva osiromašenog uranijuma u životnoj sredini, doprinosi razvoju anemije kod ispitivanih životinja potrebna su sveobuhvatnija istraživanja.

#### **Zaključak / Conclusion**

S obzirom da su manifestacije oštećenja molekula pod uticajem slobodnih kiseonikovih radikala spore i vrlo raznovrsne, teško je pouzdano zaključiti da su ustanovljeni poremećaji posledica dugotrajnog izlaganja organizama životinja dejstvu osiromašenog uranijuma u životnoj sredini. Ustanovljena makrocitna hipohromna anemija kod ovaca koje potiču sa područja bombardovanih municijom sa osiromašenim uranijumom mogla bi da bude posledica oštećenja membrane njihovih eritrocita slobodnim kiseonikovim radikalima, čiji nastanak indukuje oštećenje membrane i posledičnu hemolizu. Međutim, za konačan zaključak da je ustanovljena anemija posledica prisustva osiromašenog uranijuma u životnoj sredini potrebna su opsežnija sistematska istraživanja hematoloških, biohemijskih i citogenetičkih parametara.

**Zahvalnica:** Ovaj rad je realizovan zahvaljujući sredstvima dobijenim od Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije (projekat Br. 1518/2002) i uz pomoć kolega zaposlenih u Veterinarskoj stanici Bujanovac. /

**Acknowledgements:** *The study was supported by the Ministry of Science, Technology and Development of the Republic of Serbia (Grant No.1518/2002), and Veterinary clinic Bujanovac.*

#### **Literatura / References**

1. Bogdan C., Diefenbach A., Rollinghof M.: Current Opinion in Immunology. 12:64-76, 2000. - 2. Fisenne I. M., Perry P. M.: Health Phys. 49, 6, 1277-1275, 1985. - 3. FM

REPORT: Consequences of NATO Bombing. Federal Ministry of Science and Environment, Belgrade, 2000. - 4. La Toche Y. D., Willis D. I., Dawydiak O. I.: Health Phys. 53, 2, 147-162, 1987. - 5. Laval F.: J. Cell Physiol. 201, 73-79, 1988. - 6. Lee Ha., Gabriel R., Bolton P.: Lancet Oncology, 2, 197, 2001. - 7. Nemi J.: Essentials of veterinary hematology, ed. Lea and Febiger, 1993. - 8. Murase T., Ueda T., Yamoto O., Tajimi M., Maede Y.: Oxidative damage and enhanced erytrophagocytosis in Canine erythrocytes infected with babesia gibsoni, J. Vet. Med. Sci. 58, 3, 259-261, 1996. - 9. Petkau A.: Canadian Journal of Chemistry, 49, 1187-1196, 1971. - 10. Petkau A.: Health Physics, 22, 239-244, 1972. - 11. Phillis J. W.: Veterinary physiology, Bristol: Wright-Scientific, 1976. - 12. Popovic D., Djuric G., Todorovic D.: Central European J. of Occupational and Environmental Medicine. 8, 227-231, 2002. - 13. Ribera D.: Rev Environ Contam Toxicol. 146, 53-89, 1996. - 14. Tentori L., Salvati A. M.: Meth. Enzymol. 76, 707-715, 1981. - 15. Todorović D., Radenković M., Popović D., Ivanov S., Djurić G.: Proceedings of the IV Regional Symposium on Chemistry and Environment, Zrenjanin. 431-433, 2001. - 16. Wrenn M. E., Durbin P. W., Howard B., Lipsztein J., Rundo J., Still E. T., Willis D. L.: Health Phys. 48, 5, 601-633, 1985.

## ENGLISH

### RESULTS OF ANALYSIS OF RED BLOOD CELLS IN COWS AND SHEEP IN AREAS EXPOSED TO ATTACK USING DEPLETED URANIUM AMMUNITION

**S. Jović, Jelka Stevanović, Milica Kovačević-Filipović, Dragana Popović, Tatjana Božić**

The paper presents the results of preliminary examinations of the red blood cell count in sheep and cows raised in areas that were exposed to the effects of depleted uranium ammunition during the NATO bombing of the country in 1999. Samples of blood, soil, vegetation and feedingstuffs were collected in the course of 2003.

The results show that sheep from areas bombarded with ammunition containing depleted uranium have a significantly lower count of erythrocytes ( $p < 0.001$ ) and hemoglobin concentration ( $p < 0.001$ ), as well as a smaller packed cell volume ( $p < 0.001$ ) than control groups of animals which are not from this area. The calculated hematological indexes (MCV and MCHC) indicate that sheep from the examined area suffer from macrocytic hypochromic anaemia.

Cows from the same locations also have a significantly lower count of erythrocytes ( $p < 0.001$ ), hemoglobin concentration ( $p < 0.05$ ), and a significantly smaller packed cell volume ( $p < 0.05$ ) than cows of the control group, and are just below the level of being anaemic. The calculated hematological indexes show that erythrocytes of cows from this area are normal in size and are normally filled with hemoglobin.

In all examined samples of soil, vegetation and feedingstuffs, the  $^{235}\text{U}$  content was below the minimum detected concentration (MDC), while the measured concentrations of other natural and produced radionuclides ( $^{137}\text{Cs}$ ) were within the range of mean values measured in regional soil samples, with the exception of lower  $^{40}\text{K}$  concentrations.

**Key words:** depleted uranium, cows, sheep, erythrocytes, hemoglobin, hematological indexes.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОСМОТРА КИШЕЧНОЙ КРОВЯНОЙ КАРТИНЫ ОВЕЦ И КОРОВ  
С ПОДВЕДОМСТВЕННЫХ ОБЛАСТЕЙ, БОМБАРДИРОВАННЫХ  
БОЕПРИПАСАМИ С БЕДНЫМ УРАНИУМОМ**

**С. Йович, Елка Стеванович, Милица Ковачевич-Филипович, Драгана Попович,  
Татяна Божич**

В работе мы привели результаты прелиминарных испытаний кишечной кровяной картины овец и коров, разведённых на местностях, которые были подвергнуты действию боеприпасов с бедным ураниумом, в течение НАТО бомбардирования 1999 года. Образчики крови, земли, вегетации и корма собраны в течение 2003. года.

Результаты показывают, что овцы, проистекающие с местностях, бомбардированных боеприпасами с бедным ураниумом имеют значительно более маленькое число эритроцитов ( $p < 0.001$ ) и концентрацию гемоглобина ( $p < 0.001$ ) словно и более низкую гематокритную стоимость ( $p < 0.001$ ), чем у контрольной группы животных, которые не с этой подведомственной области. Сосчитанные гематологические индексы (*MCV* и *MCHC*) указывают, что овцы с испытыванной подведомственной области имеют макроцитную гипохромную анемию.

Коровы, происходящие с таких же локаций также имеют значительно более маленькое число эритроцитов ( $p < 0.001$ ), концентрацию гемоглобина ( $p < 0.05$ ) и значительно более низкую гематокритную стоимость ( $p < 0.05$ ) от коров из контрольной группы, и на границе анемичного состояния. Сосчитанные гематологические индексы показывают, что эритроциты коров с этой подведомственной области нормальной величины и что нормально наполнены гемоглобином.

Во всех испытанных образчиках земли, вегетации и корма, содержание  $^{235}\text{U}$  было ниже минимальной мерильной концентрации (*MDC*), пока измеренные концентрации остальных природных и произведённых радионуклидов ( $^{137}\text{Cs}$ ) находились в объёме средних стоимостей, измеренных в образчиках земле в регионе, кроме значительно более низких концентраций 40К.

Ключевые слова: бедный ураниум, коровы, овцы, эритроциты, гемоглобин, гематологические индексы