

Cink u populaciji istočne Hrvatske

Ivančević, Petra

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:253821>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE

Petra Ivančević

CINK U POPULACIJI ISTOČNE
HRVATSKE

Diplomski rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE

Petra Ivančević

CINK U POPULACIJI ISTOČNE
HRVATSKE

Diplomski rad

Osijek, 2022.

Rad je ostvaren na Medicinskom fakultetu u Osijeku u okviru projekta „Istraživanje dugotrajnih posljedica rata na zdravlje populacije“. Analize uzoraka metodom induktivno spregnute masene spektrometrije su izvedene na Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „dr. Andrija Štampar“ u Zagrebu.

Mentor rada je doc. dr. sc. Domagoj Vidosavljević, Katedra za ginekologiju i opstetriciju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku.

Rad ima 39 listova i 13 tablica.

ZAHVALE:

Zahvaljujem se mentoru doc. dr. sc. Domagoju Vidosavljeviću na pomoći, strpljenju i vodstvu u provođenju ovog istraživanja i izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Vlatki Gvozdić koja je svojim korisnim savjetima i znanjem dala doprinos u provođenju istraživanja i u izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem se svojoj obitelji na strpljenju i potpori koja mi je pružena tijekom studiranja.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
1.1. Uporaba cinka	1
1.1.1. Povijest uporabe cinka	1
1.1.2. Uporaba cinka u industriji.....	2
1.1.3. Uporaba cinka u medicini	3
1.2. Izvori cinka za ljudski organizam	4
1.3. Cink u organizmu.....	6
1.3.1. Apsorpcija, distribucija i sekrecija cinka.....	6
1.3.2. Biokemija cinka.....	7
1.4. Biomonitoring cinka.....	7
2. HIPOTEZA.....	9
3. CILJ	10
4. ISPITANICI I METODE.....	11
4.1. Ustroj studije	11
4.2. Ispitanici (materijal)	11
4.3. Metode.....	11
4.3.1. Anketni upitnik	11
4.3.2. Prikupljanje, obrada i analiza uzoraka.....	12
4.4 Statističke metode	13
5. REZULTATI	14
6. RASPRAVA.....	20
7. ZAKLJUČAK.....	28
8. SAŽETAK.....	29
9. SUMMARY.....	30

10. LITERATURA	31
11. ŽIVOTOPIS.....	35
2. PRILOZI	36
12.1. Anketni upitnik.....	36

POPIS KRATICA

AIDS: sindrom stečene imunodeficijencije (prema engl. *acquired immunodeficiency syndrome*)

COVID-19: koronavirus (prema eng. *Coronavirus disease 2019*)

DNA: deoksiribonukleinska kiselina (prema engl. *deoxyribonucleic acid*)

DRC: dinamička reakcija stanica (prema engl. *dynamic reaction cell*)

ICP-MS: spektrometrija masa induktivno spregnutom plazmom (prema engl. *inductively coupled plasma mass spectroscopy*)

NK: prirodne stanice ubojice (prema engl. *natural killer*)

pr. Kr.: prije Krista

RNA: ribonukleinska kiselina (prema engl. *ribonucleic acid*)

SARS: teški akutni respiratorni sindrom (prema eng. *Severe acute respiratory syndrome*)

ZIP4: transporter cinka

Zn: cink

1. UVOD

Cink je esencijalan mikronutrijent u ljudskom organizmu (1). Služi kao kofaktor u više od tri stotine enzima u tijelu te sudjeluje u brojnim signalnim putevima (2). Potrebno je održavati dostatne količine cinka u tijelu budući da se nedostatak cinka očituje u svim organskim sustavima. Istraživanja pokazuju da je minimalno 17 % svjetske populacije nedostatno unosi cink, naročito stanovnici zemalja u razvoju (3). Među cinkom deficijentnim državama nalazi se i susjedna Srbija, što je posljedica cinkom siromašnog tla i vode te posljedično tome i cinkom siromašne hrane (4). Unatoč tome što cink pripada skupini teških metala, intoksikacije cinkom su vrlo rijetke. Puno veći problem predstavlja deficijencija cinka u organizmu (1).

1.1. Uporaba cinka

1.1.1. Povijest uporabe cinka

Uporaba cinka seže unazad 5000 godina. Stari Babilonci koristili su cink za estetske i industrijske svrhe (5). U 15. stoljeću pr. Kr. u Ebersovom papirusu nalazimo zapise gdje se spominje topikalna primjena cinka u svrhu liječenja periokularnih lezija (6). U 18. i 19. stoljeću cink se počinje koristiti u svrhu liječenja konvulzija, te u svrhu liječenja ponekih uroloških i ginekoloških problema. Međutim, uporaba cinka u medicini ubrzo postaje opsolentna zbog nedostatka učinkovitosti tih terapija (5). Šezdesetih godina prošlog stoljeća počinje se shvaćati važnost deficijencije cinka za što se dotad smatralo da nema važnu ulogu za ljudski organizam. Krajem 19. stoljeća dokazano je da je cink esencijalan za rast gljive *Aspergillus niger*. Kasnije je istraživanjima dokazana važnost cinka za rast štakora (7). Otkriće deficijencije cinka kod ljudi vežemo uz godinu 1958. i posjet dr. Prasada i njegovih suradnika Iranu. U Iranu susreće pacijenta u dobi od 21 godine koji izgleda poput dječaka u dobi od 10 godina. Osim smanjenog rasta, u pacijenta su opisani anemija, hipogonadizam, hepatosplenomegalija, mentalna retardacija te kožne promjene kao što su suha i kruta koža. Uklonjeni su svi mogući organski uzroci te se u početku sumnjalo na deficijenciju željeza s obzirom da je anemija odgovorila na oralnu suplementaciju željezom, no to nije objasnilo ostale manifestacije. Međutim, taj pacijent nije bio jedini slučaj, na istom području u kratkom

vremenu opisano je još desetak takvih slučajeva (8). Nedugo nakon toga, opisani su slučajevi u Egiptu s istim manifestacijama te su izmjerene niske koncentracije cinka u biološkim uzorcima. Potom su provedena istraživanja u Egiptu koja su pokazala kako oralna suplementacija cinkom ispravlja negativne posljedice deficijencije cinka. U ispitanika koji su primali suplementaciju samo željezom, uspješno je izliječena anemija. Ispitanici koji su uzimali cink značajno su više narasli u visinu u usporedbi od onih ispitanika koji su uzimali samo željezo. Osim rasta u visinu, u roku od 12 do 14 mjeseci, u ispitanika koji su primali cink izliječen je hipogonadizam pojavom primjerenih sekundarnih spolnih obilježja (9). Nacionalno istraživačko vijeće Nacionalne akademije znanosti 1974. godine definira cink kao esencijalni element ljudskog organizma te prvi po puta definira preporučeni dnevni unos cinka (7).

1.1.2. Uporaba cinka u industriji

Cink se često koristi kao zaštitni premaz drugim metalima, najčešće u legurama sa željezom i čelikom čime se produljuje postojanost navedenih metala. Cinkovi spojevi imaju široku upotrebu u industriji. Cinkov klorid koristi se u industriji gume, nafte, tekstila te se nalazi u dezodoransima i dimnim bombama. Cinkov klorid iritira dišne puteve. Cinkov oksid koristi se u farmaceutskoj industriji, u industriji gume, ljepila, koristi se za bijeli pigment. Moguće je udisanje ovog spoja pri zavarivanju cinkovih legura (5). Krajem 19. stoljeća udisanjem dima cinkovog oksida pri izradi mjeda, u tvorničkih radnika javljala se akutna febrilna reakcija, danas poznata kao groznica metalnih dimova (10). Veliki problem u agronomiji je deficijencija tla cinkom što rezultira usjevima čiji su plodovi oskudni cinkom. U zemljama u razvoju pšenica čini osnovu prehrane te čini više od 50 % unešenih kalorija. Poglavito se to odnosi na zemlje Bliskog istoka, subsaharske Afrike te centralnu i zapadnu Aziju (11). S obzirom da je cink esencijalan ne samo za rast biljaka, nego i ljudi, provodi se biofortifikacija usjeva s ciljem bogaćenja žitarica cinkom. Agronomska biofortifikacija je jeftina i pruža dvostruku prednost povećanja prinosa i poboljšanja koncentracije Zn u zrnu. Postoji više načina primjene cinka, npr. gnojidba tla, folijarna prihrana i priprema sjemena (12).

1.1.3. Uporaba cinka u medicini

Iako je ozbiljan nedostatak cinka kod ljudi rijedak, marginalni nedostatak zina široko je rasprostranjen, čak i u visoko razvijenim industrijskim društvima. Istraživanjima je dokazano da je optimalni unos cinka važan za obnovu oslabljene imunološke funkcije i da smanjuje incidenciju infektivnih bolesti (13). Preporučena dnevna doza unesenog cinka ovisi o dobi, spolu i rasi te za odrasle žene bijele rase iznosi 6,9 mg dnevno, a za odrasle muškarce bijele rase iznosi 9,4 mg dnevno (14).

Postoje skupine koje imaju povišen rizik za deficijenciju cinka poput vegetarijanaca kod kojih imamo smanjenu apsorpciju cinka i starijih koji unose nedovoljno cinka. Deficijencija cinka javlja se i kod onih koji imaju povećanu potrebu za unosom cinka poput trudnica, dojilja, osoba s alergijom i aktivnom upalnom bolešću.

Povišenu eliminaciju cinka te posljedično deficijenciju cinka nalazimo kod osoba s dijabetesom, s renalnom insuficijencijom, te kod interakcija pri uzimanju lijekova poput glukokortikoida, antacida, hormonalne kontracepcije i diuretika.

Smanjenu apsorpciju cinka nalazimo kod osoba s kroničnom intestinalnom bolešću kao što je Kronova bolest i celijakija. Alkoholičari osim nedovoljnog unosa cinka, imaju i povišenu eliminaciju (13).

Cink je esencijalan za sintezu DNA molekula, transkripciju RNA molekula, diobu i aktivaciju stanica te tako djeluje na razvoj i funkciju stanično posredovane prirodene imunosti, neutrofile i NK stanice. Osim toga, deficijencija cinka smanjuje djelovanje makrofaga, fagocitoze, smanjuje produkciju citokina te T i B limfocita. Višebrojna istraživanja dokazala su smanjene duljine trajanja i ozbiljnosti simptoma virusnih, bakterijskih i parazitskih infekcija (15). Za jačanje imunološkog sustava najčešće se koriste pastile cinkovih soli, poput cinkovog glukonata i cinkovog acetata. Istraživanje je dokazalo da nema značajne razlike u djelovanju između ta dva spoja. Duljina trajanja prehlade u grupi koja je uzimala pastile tijekom obične prehlade bila je za 33 % kraća od trajanja prehlade placebo grupe. Također, unos cinka viši od 100 mg dnevno nema veći učinak na ishod bolesti (16). Cink smanjuje trajanje virusnih bolesti stabilizirajući membranu stanica, što otežava penetraciju virusa, te povećavanjem produkcije interferona alfa. Inhibirajući apoptozu T limfocita i povećanjem produkcije timocita, suplementacija cinkovim sulfatom smanjuje učestalost pojave infekcija u

bolesnika s AIDS-om (13).

Istraživanje na štakorima u kojem je eksperimentalna skupina gravidnih ženki uzimala 0,5 mg Zn dnevno, za razliku od kontrolne skupine koja je uzimala 35 mg Zn dnevno, imala je poteškoća s reprodukcijom, znatno češći intrauterini zastoj u rastu ploda te je 90 % fetusa imalo teške kongenitalne malformacije. Kongenitalne malformacije javljale su se i kod privremene deficijencije cinkom u graviditetu. Deficijencija u ranom graviditetu rezultirala je poremećajima razvoja skeleta glave i neuralnih struktura, a u kasnom poremećajima skeleta i urogenitalnog sustava (17).

Unos cinka smanjuje se starenjem, a jedno istraživanje provedeno u SAD-u ranih devedesetih godina prošlog stoljeća pokazalo je da tek 42,5 % osoba starijih od 71 godinu unosi dostatnu količinu cinka (18). Deficijencija cinka u starijih ljudi povećava rizik za povišeni ukupni kolesterol, makularnu degeneraciju, osteoporozu, nastanak ateroskleroze i hipertenzije, nastanak dijabetesa tipa 2, pogoršanje neuropsihijatrijskog stanja te slabiji imunološki sustav. Najpoznatija bolest uzrokovana deficijencijom cinka je *acrodermatitis enteropatica*, odnosno genetska bolest pri kojoj osobe imaju mutaciju transportera cinka ZIP4 kojeg nalazimo gotovo u cijelom probavnom sustavu. Mutacija transportera rezultira deficijencijom cinka koja se očituje već u dojenačkoj dobi smanjenim rastom, disfunkcijom imunološkog sustava, alopecijom, dermatitisom, dijarejom i kognitivnom disfunkcijom. Pravovremenom dijagnozom, oralnom suplementacijom cinkom može se zaustaviti napredovanje bolesti, a ponekad i izliječiti (1).

1.2. Izvori cinka za ljudski organizam

Cink dospijeva u ljudski organizam putem zraka, vode, hrane te posredno putem tla. Cink koji se nalazi u zraku posljedica je uglavnom antropogenog djelovanja, najčešće u metalurškoj industriji (npr. u industriji mjeda), u talionicama, spaljivanjem otpada i rudarstvu. Također, pronađene su više koncentracije cinka u zraku urbanih područja (5). Cinkov klorid je spoj široko prisutan u industriji, no količina udahnutog spoja posljedično industrijskoj proizvodnji zanemariv je u odnosu na količinu udahnutog spoja u vojnim nesrećama. U takvim nesrećama cinkov klorid uzrokovao je iritacije respiratornog sustava, a u ozbiljnijim slučajevima plućni edem i hemoragijska oštećenja pluća (19). Bombe koje

sadrže cink u dimu najveći su inhalacijski izvor cinka u toksičnim koncentracijama. Cinkov klorid i cinkov sulfat pokazali su se topljivima u vodi, za razliku od cinkovog oksida, cinkovog karbonata i fosfata koji nisu topljivi u vodi (20).

Poznato je da su teški metali toksični u povišenim koncentracijama te su dokumentirani toksični učinci povišene koncentracije cinka na različite vrste riba. Riba *Danio rerio* često se koristi u istraživanjima gdje se provjerava učinak okolišnog zagađenja na razvoj ribe te moguće toksične učinke zagađenja na embrionalni razvoj ribe. Jedno istraživanje dokazalo je teratogeni učinak povišenih koncentracija cinkovog klorida u vodi na *Danio rerio* uzrokujući malformacije skeleta ribe (21).

Domovinski rat na području istočne Hrvatske rezultirao je kontaminacijom okoliša uporabom oružja. Pronađene su povišene vrijednosti navedenih metala u tlu više od dopuštenih definiranih nacionalnim zakonodavstvom za ekološku proizvodnju, što je razlog za brigu i mogući razlog za poduzimanje mjera poput fitoremedijacije tla. Također, koncentracije teških metala u tlu više su na lokacijama visokog intenziteta ratnih zbivanja. Biomonitoring stanovnika lokacija visokog intenziteta ratnih zbivanja pokazao je znatno višu koncentraciju aluminija, borona i žive u serumu te povišene vrijednosti arsena, bakra i silicija u urinu u odnosu na koncentracije stanovnika lokacija niskog intenziteta borbenih djelovanja (22).

Povišene koncentracije cinka i drugih teških metala pronalaze se na tlu koje je nalazi u blizini prometnica. Osim moguće akumulacije teških metala u biljkama, dokazan je negativan učinak povišenih koncentracija teških metala na aktivnost enzima u tlu što potencijalno može imati negativne ekološke učinke (23). Povišene koncentracije cinka u tlu često su posljedica industrijskog zagađenja. Prosječna koncentracija cinka u tlu je 10 – 300 mg Zn u kilogramu tla, dok je ta koncentracija tla u blizini rudnika fosfatne rude između 450 – 110 mg Zn po kilogramu tla što rezultira povišenim koncentracijama cinka u vegetaciji takvog tla (5). Također, procjenjuje se da je više od 40% industrijskih otpadnih voda kontaminirano teškim metalima (20). Tlo koje prirodno sadrži cink u svom sastavu glavni je izvor cinka u površinskim vodama te obično sadrži oko 50 µg Zn u litri vode. Voda za piće sadrži 0,01 – 0,1 mg Zn u litri vode (5).

Životinjsko meso najbolji je izvor prehranbenog cinka za ljude, a najbogatije cinkom je crveno meso. Nasuprot tome, mnoge biljne namirnice siromašne su cinkom, a bogate neprobavljivim ligandima koji vežu cink. Razvojem industrijalizacije, ljudska prehrana sve

manje ovisi o prehrani životinjskim mesom te se sve više temelji na prehrani žitaricama i mahunarkama koje su bogate neprobavljivim ligandima koje vežu cink, poput fitata i određenih vlakana (7). Osim crvenog mesa, hrana životinjskog podrijetla koja sadrži najviše cinka su kamenice, životinjska jetra i sirevi (13).

1.3. Cink u organizmu

1.3.1. Apsorpcija, distribucija i sekrecija cinka

Cink je moguće apsorbirati inhalacijom, ingestijom te transdermalno. Od ranije je poznato da inhalacija velikih količina cinkovog oksida uzrokuje groznicu metalnih dimova koja se očituje mnogim sistemnim simptomima (5). Cinkov oksid u različitim vrstama masti, pudera i zavoja koristio se stoljećima za kožne bolesti (24), no danas znamo da primjena cinka u liječenju dermatoloških bolesti ima ograničeno djelovanje, jedino oralna suplementacija cinkom ubrzava cijeljenje rana kod ljudi s deficijencijom cinka (1). Istraživanje provedeno primjenom ljepljivih cinkovih traka kao topikalna terapija za opekline pokazalo je kako takav tretman ne samo da je ubrzao cijeljenje, nego je i ovisno o veličini površine opekline, apsorpcija cinka iz traka kroz kožu uspijevala povisiti serumske vrijednosti cinka (24). Najvažniji način apsorpcije cinka je apsorpcija kroz gastrointestinalni trakt. Tako se 60 % cinka apsorbira kroz duodenum, 30 % kroz ileum te 10 % kroz jejunum, a debelo crijevo minimalno apsorbira cink. Unos cinka je reguliran mehanizmima i transporterima na apikalnoj i bazolateralnoj membrani enterocita. Ipak apsorpcija cinka uvelike ovisi o sastavu hrane. Apsorpcija cinka može biti smanjena u prisustvu kadmija, bakra i žive, te prisustvom fitata koji se nalaze u žitaricama i legumima (1).

Prosječna odrasla osoba u organizmu sadrži ukupno 1,4 – 2,3 grama cinka. Cink je prisutan u svim organima, tkivima i sekretima ljudskog tijela. Najviši postotak cinka nalazimo u skeletnim mišićima (57 %) i kostima (29 %). Kosa i krvna plazma sadrže 0,1% ukupnog cinka u organizmu (25). Eliminacija cinka iz organizma najvećim dijelom (70 – 80 %) obavlja se fekalnim putem, ostatak cinka odstranjuje se putem urina i znoja. Eliminacija fekalnim putem povećava se povećavanjem unosa cinka (5). Smanjenim unosom cinka smanji se i količina cinka koja se eliminira mokraćom i fecesom (26).

1.3.2. Biokemija cinka

Cink je prisutan u stotinama enzima i proteina. Postoji i naziv cinkov prsten kojim se objašnjava strukturalna uloga cinka u proteinima, naime uočeno je devet ponavljajućih sekvenci u transkripcijskom faktoru IIIA afričke žabe *Xenopus laevis*. Pokazalo se da sekvence vežu cink preko dva cisteinska i dva histidinska liganda i nazivaju se cinkovi prsti s obzirom da sadrže cink i poput prstiju drže DNA. Na taj način objašnjavamo važnost cinka u transkripciji DNA.

Cink sudjeluje u enzimskoj katalizi cinkovih enzima. Sudjeluje također u interakcijama između proteina gdje domena koja veže cink prepoznaje druge proteine i premošćuje podjedinice istog ili različitih proteina (1).

1.4. Biomonitoring cinka

Biomonitoring daje podatke o sveukupnoj izloženosti cinku pomoću izmjerenih koncentracija cinka u tjelesnim uzorcima poput krvi ili urina. Na taj način pokazana je integrativna mjera izloženosti svim putevima (oralnim, dermalnim i inhalacijskim). Biomarkeri koji su se ispostavili najkorisnijima u programima biomonitoringa na razini populacije su: plazma ili serum, kosa i urin. Ne postoji razlika između koncentracija cinka u serumu i plazmi. Mjerenje koncentracija cinka u serumu i plazmi dolazi s određenim ograničenjima kao što su održavanje relativno stalne koncentracije cinka homeostatskim mehanizmima, utjecaj brojnih čimbenika nepovezanih s unosom cinka koji uzrokuju pad koncentracija u serumu (infekcije, upale, vježbanje, stres i trauma), a katabolizam prisutan tijekom gladovanja privremeno povisuje razine cinka u plazmi. Homeostatski mehanizmi koji reguliraju koncentracije cinka su apsorpcija putem gastrointestinalnog sustava te ekskrecija putem fecesa i urina. Cink u serumu čini manje od 0,2 % ukupnog cinka u tijelu (ukupno 3,5 mg Zn u tijelu). Eliminacija cinka iz tijela najviše ovisi o količini unosa cinka u tijelo. Primarni način eliminacije cinka je putem fecesa, dok se putem urina uklanja u prosjeku 3% unesenog cinka u danu (27). Istraživanja su pokazala kako je urin koristan pokazatelj povećane izloženosti cinku pod uvjetom da osoba adekvatno unosi cink. Kod osoba koje adekvatno unose cink će se pri uzimanju suplemenata koji sadrže više od 15 mg cinka, primijetiti znatno povišenje koncentracije cinka u urinu. Također, smanjene koncentracije cinka u urinu primijetiti će se

tek kod značajnog smanjenja unosa cinka (manje od 3 mg u danu). Koncentracije cinka u kosi pokazatelj su koncentracija cinka koje su bile dostupne folikulu dlake u vrijeme rasta dlake, a ne u vrijeme sakupljanja uzoraka. Cink u kosu dopijeva putem krvne opskrbe koja okružuje folikul dlake. Izlaganje okolišu ne utječe na koncentracije cinka u kosi, kao ni egzogeni zagađivači kao što su atmosferski zagađivači, voda, znoj ili različiti tretmani kose. S druge strane, koncentracije cinka u kosi ovise o dobi, spolu i brzini rasta kose. Također, istraživanja su pokazala da povećan unos cinka povisuje sadržaj cinka u kosi (28).

2. HIPOTEZA

1. U područjima s povišenim cinkom u pitkoj vodi su povišene vrijednosti cinka u biološkim uzorcima.
2. Postoji razlika u koncentraciji cinka u biološkim tkivima kod ispitanika prema dobi i spolu.
3. Postoji razlika u koncentraciji cinka u biološkim tkivima kod ispitanika s obzirom na profesionalnu izloženost u odnosu na ostatak ispitanika zbog dodatnog opterećenja cinkom.

3. CILJ

Ciljevi istraživanja su:

- Ispitati vrijednosti koncentracije cinka u serumu, urinu i kosi u ciljanoj populaciji
- Ispitati izloženost cinka u pitkoj vodi prema izmjerenim vrijednostima i relevantnoj literaturi
- Ispitati postoji li povezanost između prethodne bolesti pacijenta i visokih vrijednosti cinka u biološkim tkivima
- Ispitati postoji li razlika u koncentraciji cinka u biološkim tkivima kod ispitanika prema dobi i spolu

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Provedeno je istraživanje u sklopu projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa pod nazivom „Istraživanje dugotrajnih posljedica ratnih zbivanja na zdravlje stanovništva“. Studija je presječna.

4.2. Ispitanici (materijal)

Istraživanje je provedeno na 601 nasumično odabranih ispitanika iz baza pacijenata ordinacija obiteljske medicine s područja istočne Hrvatske. Ispitanici u istraživanju punoljetni su stanovnici centralno smještene Osječko-baranjske županije, Vukovarsko-srijemske županije, Virovitičko-posavske županije, Požeško-slavonske i Brodsko-posavske županije. Uzorci su prikupljeni 2010. godine u Vladislavcima, Dalju, Čepinu, Našicama, Osijeku, Vukovaru, Vinkovcima, Slavenskom Brodu a 2020. godine u Virovitici.

4.3. Metode

4.3.1. Anketni upitnik

Svaki ispitanik ispunio je standardiziranu anketu s 14 pitanja koja su obuhvaćala pitanja o osnovnim demografskim pokazateljima, navikama i čimbenicima koji bi potencijalno mogli utjecati na razine teških metala i cinka u organizmu. Od 14 pitanja, 12 pitanja je bilo zatvorenog tipa s ponuđenim odgovorima na zaokruživanje, a 2 pitanja su bila otvorenog tipa gdje je ispitanik morao navesti svoju dob i popis dijagnoza iz liječničkog kartona u posljednjih 10 godina. Zabilježeni su spol, dob (stariji ili mlađi od 60 godina), mjesto prebivališta, profesionalna izloženost, bolovanje od neke bolesti, navike pušenja, konzumacija alkohola te porijeklo vode za piće (konzumiraju li kupovnu vodu, bunarsku, lokalni vodovod ili gradski vodovod). Anketni upitnik nalazi se u Prilozima.

4.3.2. Prikupljanje, obrada i analiza uzoraka

Svaki ispitanik priložio je uzorak prvog jutarnjeg urina u polietilenskom kontejneru za urin (bočice od 100 ml, *Greiner Bio-One*, Frickenhausen, Njemačka). Uzorci kose (3 cm dužine i 1 cm širine) su uzeti sa zatiljka, uz tjeme pomoću škara od nehrđajućeg čelika i pohranjeni u polietilenske vrećice. Također, svakom ispitaniku je izvađena jedna epruveta krvi. Laboratorijski tehničar odradio je uzorkovanje krvi pomoću igle (*Vacurette Blood* igla, 38 × 0,9 mm, *Greiner Bio-One*, Frickenhausen, Njemačka) i epruvete (*Vacurette serum gel Tube* 3,5 mL, *Greiner Bio-One*, Frickenhausen, Njemačka).

Uzorci su poslani u Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, gdje su centrifugirani kako bi se izdvojio serum, nakon čega je supernatant prebačen u krioeprovete te odložen u hladnjaku Zavoda, na temperaturi od - 30 °C. Prikupljeni biološki uzorci poslani su na ICP-MS analizu elemenata. Pomoću ICP-MS određene su vrijednosti ukupno 66 metala i metaloida. U laboratoriju je napravljena analiza bioloških uzoraka ispitanika (serum, urin, kosa) ICP-MS metodom uz postupak u DRC (prema engl. *dynamic reaction cell*) modu koji služi za uklanjanje interferencije spektara pojedinih elemenata.

ICP-MS analize su provedene u Laboratoriju za ICP-MS analize u Zavodu za javno zdravstvo „dr. Andrija Štampar“ (22). ICP-MS je vrsta masene spektrometrije koja je vrlo osjetljiva i omogućuje određivanje niza elemenata uključujući elemente u tragovima tako što dolazi do stvaranja i identificiranja iona. Danas postoji niz različitih ICP-MS dizajna koji dijele mnoge slične komponente, kao što su nebulizator, komora za raspršivanje, tzv. *torch* i detektor, ali se mogu značajno razlikovati u dizajnu sučelja, sustavu za fokusiranje iona, uređaju za odvajanje mase i vakuumske komori. Uvođenjem uzorka u instrument dolazi do pretvaranja uzorka u aerosol koji se zagrijava na 8000 °C u plazmi argona, nakon čega ioni prolaze iz plazme u spektrometar masa i razdvajaju se na temelju odnosa mase i naboja. Taj odnos ih identificira. Nakon što je uzorak uveden u instrument pomoću automatskog uzorkivača, zatim preveden u fini aerosol pomoću raspršivača, isti se pomoću plina argona usmjerava prema plazmi. Plazma se pomoću visokofrekventne struje grije na 6000 – 10 000 °C te usmjerava kroz tzv. *torch* koji se sastoji od triju koncentrično postavljenih kolona. Argon koji formira plinski protok plazme (engl. *plasma gas*) kreće se između vanjske i središnje kolone spiralnim tijekom i najvećom brzinom s

osnovnom funkcijom rashlađivanja, radi zaštite stijenki kolone. Između središnje i unutarnje kolone teče pomoćni protok argona koji sprečava topljenje kolone i nakupljanje soli. U centralnoj koloni aerosol uzorka prenosi se putem magličastog protoka i pomoću visoke temperature raspršuje se, isparava te razdvaja na atome i ione. Pomoću elektrostatskih leća i ionske optike, ioni se razdvajaju na temelju omjera mase i naboja.

Tri su osnovna načina razdvajanja u MS sustavima: kvadripolarni, magnetski i na temelju vremena leta. Većina ICP-MS uređaja bazira se na kvadripolarnom sustavu. Sastoji se od dvaju paralelnih cilindara u kojima se u električnom polju, nastalom na temelju visokih voltaža, razdvajaju ioni. Nakon prolaska kroz maseni spektrometar, ioni udaraju u aktivnu površinu detektora koji elektronskom multiplikacijom proizvodi od kaskade elektrona specifičan puls (29, 30).

4.4 Statističke metode

Kategorijski prikazani su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Normalnost raspodjele kontinuiranih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Zbog raspodjele kontinuiranih varijabli koje ne slijede normalnu razdiobu kontinuirani podaci opisani su medijanom i interkvartilnim rasponom. Razlike numeričkih varijabli između dvije nezavisne skupine testirane su Mann Whitneyevim U testom (uz 95 % interval pouzdanosti razlike medijana), a između tri i više skupina Kruskal Wallisovim testom (Post hoc Conover). Sve *P* vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na $\text{Alpha} = 0,05$. Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 20.026 (*MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2022*) i SPSS ver. 23 (*IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS, Ver. 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.*)

5. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 601 ispitaniku, od kojih je 321 (53,4 %) muškarac i 280 (46,6 %) žena. S obzirom na dob, 408 (67,9 %) ispitanika je u dobi manje od 60 godina. Najviše ispitanika, njih 106 (17,6 %) je iz Dalja i 101 (16,8 %) ispitanik iz Virovitice (Tablica 1).

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitanika

	Broj ispitanika	(%)
Spol		
Muškarci	321	(53,4)
Žene	280	(46,6)
Dobne skupine		
do 60 godina	408	(67,9)
više od 60 godina	188	(31,3)
Naselje		
Vukovar	51	(8,5)
Slavonski Brod	31	(5,2)
Vinkovci	27	(4,5)
Vladislavci	88	(14,6)
Dalj	106	(17,6)
Čepin	52	(8,7)
Našice	81	(13,5)
Osijek	64	(10,6)
Virovitica	101	(16,8)

Alkohol konzumiraju 243 (40,4 %) ispitanika, a cigarete puši 191 (31,8 %) ispitanika. Bolesti od prije su prisutne kod 110 (18,3 %) ispitanika. Izloženost u domu/ profesionalna izloženost bilježi se kod 338 (56,2 %) ispitanika (Tablica 2).

Tablica 2. Navike u konzumiranju alkohola i cigareta, prisutni komorbiditeti te izloženost u domu

	Broj ispitanika	(%)
Konzumira alkohol	243	(40,4)
Puši cigarete	191	(31,8)
Bolest od prije	110	(18,3)
Izloženost u domu/ profesionalna izloženost	338	(56,2)

Iz gradskog vodova pije vodu 298 (49,6 %) ispitanika, a iz bunara njih 142 (23,6 %) (Tablica 3).

Tablica 3. Raspodjela ispitanika prema tome kakvu vodu piju

	Broj ispitanika	(%)
Kupovna voda	109	(18,1)
Gradski vodovod	298	(49,6)
Bunar	142	(23,6)
Lokalni vodovod	164	(27,3)

Medijani cinka u serumu, kosi i u urinu prikazani su Tablicom 4.

Tablica 4. Mjere sredine i raspršenja cinka u serumu, kosi i u urinu

	Medijan (interkvartilni raspon)	Minimum – maksimum
Cink u serumu	438,3 (139,5 - 783,4)	0 – 30709,18
Cink u kosi	473,7 (154,1 - 812,2)	0 – 12420,00
Cink u urinu	181,2 (97,5 - 909,3)	0 – 128260,50

Kod muškaraca su značajno više koncentracije cinka u serumu (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) dok razlike u koncentraciji cinka u kosi i u urinu nisu značajne prema spolu (Tablica 5).

Tablica 5. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na spol

	Medijan (IQR) po spolu		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P^*
	Muškarci	Žene		Od	Do	
Cink u serumu	559,2 (186,8 - 847,4)	327,1 (100,6 - 705,8)	-122,9	-184,8	-70,6	<0,001
Cink u kosi	529,1 (149,7 - 857,3)	457,4 (157,5 - 786)	-11,7	-56,9	28,7	0,57
Cink u urinu	195,7 (101,6 - 933,4)	167,7 (88,6 - 871,1)	-15	-43,5	11,9	0,27

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Ispitanici u dobi do 60 godina imaju značajno više koncentracije cinka u kosi (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) u odnosu na starije od 60 godina, dok stariji od 60 godina imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu (Mann Whitney U test, $P = 0,001$) u odnosu na mlađe ispitanike (Tablica 6).

Tablica 6. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na dob

	Medijan (IQR) po dobi		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P^*
	do 60 godina	više od 60 godina		Od	Do	
Cink u serumu	381,8 (108,5 - 758,7)	603,9 (211 - 823,1)	94,6	40,8	155,2	0,001
Cink u kosi	594,5 (189,1 - 859,4)	307,4 (115,4 - 751,1)	-100,8	-163,5	-51,3	<0,001
Cink u urinu	158,1 (97,7 - 885)	292,2 (95,8 - 978,5)	11,9	-19,2	52,6	0,45

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Ispitanici koji su profesionalno izloženi imaju značajno niže koncentracije cinka u serumu (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) i u urinu (Mann Whitney U test, $P = 0,004$), dok su im značajno više koncentracije u kosi (Mann Whitney U test, $P = 0,005$) u odnosu na ispitanike koji nisu profesionalno izloženi (Tablica 7).

Tablica 7. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na profesionalnu izloženost

	Medijan (IQR) po profesionalnoj izloženosti		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P^*
	Nisu izloženi	Izloženi		Od	Do	
Cink u serumu	555,5 (196,6 - 836)	349,6 (111,1 - 741,2)	-105,1	-166,2	-49,5	<0,001
Cink u kosi	382,1 (122,6 - 787)	551,9 (188,2 - 841,1)	59,9	19,4	108,7	0,005
Cink u urinu	345,7 (109 - 972,4)	146,9 (89,1 - 733,5)	-45,3	-91,5	-13,5	0,004

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Nema značajnih razlika u koncentraciji cinka u serumu, kosi i u urinu u odnosu na prijašnje bolesti (Tablica 8).

Tablica 8. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na prijašnje bolesti

	Medijan (IQR) s obzirom na prijašnje bolesti		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P*
	Nemaju	Imaju		Od	Do	
Cink u serumu	435,8 (143,9 - 801,1)	446,3 (125,9 - 758,7)	-27,7	-90,3	30,3	0,34
Cink u kosi	479,8 (143,1 - 812,3)	460,2 (175,1 - 819,6)	14,2	-43,5	62,9	0,60
Cink u urinu	201,6 (97 - 951,6)	142,7 (99,6 - 475)	-29,1	-74,4	3,75	0,09

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Ispitanici koji piju kupovnu vodu imaju značajno višu koncentraciju cinka u kosi (Mann Whitney U test, $P = 0,009$) u odnosu na one koji ne piju kupovnu vodu, dok u koncentracijama u serumu i u urinu nema značajnih razlika u odnosu na konzumiranje kupovne vode (Tablica 9).

Tablica 9. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na to piju li ili ne kupovnu vodu

	Medijan (IQR) s obzirom konzumiranje kupovna vode		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P*
	Ne piju kupovnu vodu	Piju kupovnu vodu		Od	Do	
Cink u serumu	450,4 (136,3 - 795,1)	406,3 (142,5 - 759,4)	-11,9	-77,2	47,8	0,68
Cink u kosi	413,6 (148,3 - 792,7)	697,3 (226,6 - 865,2)	87,03	19,4	173,7	0,009
Cink u urinu	202,9 (98,2 - 929,2)	142,4 (92,9 - 477,9)	-29,9	-75,2	3,16	0,08

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Ispitanici koji piju vodu iz gradskog vodovoda imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu (Mann Whitney U test, $P < 0,001$), i značajno nižu koncentraciju u urinu (Mann Whitney U test, $P = 0,003$), i u kosi (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) u odnosu na one koji ne piju vodu iz gradskog vodovoda (Tablica 10).

Tablica 10. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na to piju li vodu iz gradskog vodovoda

	Medijan (IQR) s obzirom konzumiranje vode iz gradskog vodovoda		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P^*
	Ne piju	Piju		Od	Do	
Cink u serumu	243,4 (97,1 - 581,5)	685,9 (295,6 - 865,8)	276,3	208,3	346,6	<0,001
Cink u kosi	651,5 (278,3 - 884,8)	273,8 (129,9 - 749)	-168,4	-239,6	-103,6	<0,001
Cink u urinu	211,9 (100,2 - 1328)	158,2 (95,1 - 730,5)	-44,4	-86,7	-13,9	0,003

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Značajno niže vrijednosti cinka u serumu (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) i više u urinu (Mann Whitney U test, $P = 0,02$) imaju ispitanici koji konzumiraju vodu iz bunara, dok u ostalim koncentracijama nema značajnih razlika (Tablica 11).

Tablica 11. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na to piju li vodu iz bunara ili ne

	Medijan (IQR) s obzirom konzumiranje vode iz bunara		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P^*
	Ne piju	Piju		Od	Do	
Cink u serumu	523,4 (178,3 - 817,5)	206,8 (83,3 - 580,2)	-175,7	-253,3	-105,9	<0,001
Cink u kosi	492,2 (147,7 - 813,8)	472,7 (231,2 - 811,6)	12,5	-43,7	81,2	0,67
Cink u urinu	163,5 (95,8 - 867,9)	330,8 (103,2 - 1063,9)	44,9	8,15	105,2	0,02

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Nema značajnih razlika u koncentracijama cinka u urinu s obzirom na konzumiranje vode iz lokalnog vodovoda, ali je cink u serumu značajno viši kod ispitanika koji ne konzumiraju vodu iz lokalnog vodova, a značajno je viši cink u kosi kod ispitanika koji konzumiraju vodu iz lokalnog vodovoda (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) (Tablica 12).

Tablica 12. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na konzumiranje vode iz lokalnog vodovoda

	Medijan (IQR) s obzirom konzumiranja vode iz lokalnog vodovoda		Razlika	95% raspon pouzdanosti (CI)		P*
	Ne piju	Piju		Od	Do	
Cink u serumu	564,1 (175,5 - 827)	222,1 (98,6 - 521,9)	-193,5	-272,8	-117,7	<0,001
Cink u kosi	346 (134 - 775)	760,1 (403 - 995)	283,7	1925,5	391,5	<0,001
Cink u urinu	187,9 (96,4 - 861)	155,2 (99,1 - 3252,2)	18,7	-11,5	54,2	0,23

IQR – interkvartilni raspon; *Mann Whitney U test (Hodges-Lehmannova razlika medijana)

Značajno je viša koncentracija cinka u serumu u Vukovaru, Vinkovcima i Virovitici u odnosu na sva druga mjesta; značajno je najniža koncentracija cinka u Vladislavcima. Koncentracija cinka u kosi je viša u Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku u odnosu na ostala naselja, a koncentracija cinka u urinu značajno je viša u Virovitici, a niža u Našicama u odnosu na druga naselja (Tablica 13).

Tablica 13. Razlike u koncentracijama cinka u serumu, kosi i urinu s obzirom na mjesto uzorkovanja

	Cink u serumu	P*	Cink u kosi	P*	Cink u urinu	P*
Vukovar	856 (776,3 - 928,8)		121,4 (106,2 - 162,6)		343,6 (201,1 - 503,3)	
Slavonski Brod	700,9 (607,6 - 801,4)		165,3 (135,5 - 188,4)		282,8 (131,7 - 429,6)	
Vinkovci	960,9 (858,5 - 1058,5)		153,4 (124,4 - 199,2)		418,2 (168,7 - 825,9)	
Vladislavci	142,9 (72,8 - 356,6)		645,3 (353,5 - 868,7)		129,4 (72,2 - 500,1)	
Dalj	151,2 (79,2 - 324,8)	<0,001 [†]	780,9 (416,9 - 1139)	<0,001 [‡]	695,9 (100,8 - 5738,6)	<0,001 [§]
Čepin	285,5 (109,4 - 526,7)		788,4 (648,5 - 989,3)		124,1 (91,8 - 220,3)	
Našice	283,6 (104,2 - 455,2)		770,9 (698,3 - 876,9)		97,1 (28 - 119,7)	
Osijek	295,6 (101,1 - 548,7)		746,4 (424 - 895,2)		117,6 (68,7 - 167,1)	
Virovitica	783,1 (671,6 - 891,9)		114,3 (92,8 - 147)		923,4 (801,6 - 1047,3)	

*Kruskal Wallis test (Post hoc Conover)

[†]na razini P < 0,05 značajno je viša koncentracija u Vukovaru u odnosu na sva druga mjesta osim u Virovitici; značajno je najniža koncentracija cinka u Vladislavcima

[‡]na razini P < 0,05 značajno je viša koncentracija u Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku u odnosu na ostala naselja

[§]na razini P < 0,05 značajno je viša koncentracija u Virovitici, a niža u Našicama u odnosu na druga naselja

6. RASPRAVA

U sklopu projekta "Istraživanje dugotrajnih posljedica rata na zdravlje populacije" prikupljeni su uzorci seruma, urina i kose kod više od 500 ispitanika u 14 naselja u 4 slavonske županije i analizirani metodom induktivno spregnute masene spektrometrije.

Cilj istraživanja je prikazati povezanost i izloženost cinku u biološkim uzorcima (serumu, urinu i kosi) u istočnoj Hrvatskoj s obzirom da dob ispitanika (stariji ili mlađi od 60 godina), spol, mjesto prebivališta, profesionalnu izloženost i bolovanje od neke bolesti.

Prikupljeni su uzorci seruma, urina i kose iz ukupno 9 naselja istočne Hrvatske (Vukovar, Vinkovci, Našice, Vladislavci, Dalj, Čepin, Osijek, Slavonski brod i Virovitica).

Od 601 ispitanika, 321 (53,4 %) su muškarci, a 280 (46,6 %) su žene. Mlađih od 60 godina ukupno ima 408 (67,9 %), a starijih 188 (31,3 %). Alkohol konzumira 243 (40,4 %) ispitanika, a cigarete puši 191 (31,8 %) ispitanika. Profesionalno izloženo je 338 (56,2 %) ispitanika. Najviše ispitanika konzumira vodu iz gradskog vodovoda (298, odnosno 49,6 %), iz lokalnog vodovoda 164 ispitanika (27,3 %), iz bunara 142 ispitanika (23,6 %), a najmanje se koristi kupovna voda, odnosno tek 109 ispitanika (18,1 %).

S obzirom na Domovinski rat koji se zbivao na prostorima istočne Hrvatske, istraživalo se postoje li posljedice rata na okoliš. Rat je uzrok značajne kontaminacije okoliša metalima i metaloidima zbog uporabe borbenih sredstava. U tu svrhu prikupljeni su uzorci tla, vode i poneke vegetacije s tih područja, te su prikupljeni uzorci seruma, urina i kose stanovnika istih područja (22). Normalan raspon koncentracija cinka u serumu je 800 – 1200 µg/L (4). Usporedbom referentnih vrijednosti i medijana koncentracija cinka u serumu možemo zaključiti kako se manjina ispitanih naselja nalazi unutar referentnih vrijednosti za koncentracije seruma (Vukovar, Vinkovci i Virovitica), a ostatak naselja pokazuje koncentracije cinka ispod referentnih vrijednosti (Slavonski Brod, Vladislavci, Dalj, Čepin, Našice, Osijek i Virovitica). Ovim istraživanjem pokazano je kako je značajno najviša koncentracija cinka u serumu izmjerena u Vukovaru, Vinkovcima i u Virovitici, a značajno najniža u Vladislavcima.

Teško je objasniti značajno višu koncentraciju cinka u navedenim naseljima. Jedno istraživanje pokazalo je kako su, prema nacionalnoj legislativi, vrijednosti pojedinih ispitivanih teških metala na području Vukovara i Vinkovaca unutar referentnih vrijednosti za

ispitivane elemente u tlu. Međutim, po kriteriju za pjeskovito zemljište, koncentracije cinka u uzorcima tla s područja Vukovara i Vinkovaca su povišene (31).

S obzirom da je područje istočne Hrvatske zahvaćeno ratom početkom devedesetih godina prošlog stoljeća, postavljalo se pitanje mogućeg zagađenja područja teškim metalima. Provelo se istraživanje u kojem su se prikupili podaci koncentracija 66 metala i metaloida iz uzoraka tla, vode, biljaka te uzoraka seruma, kose i urina kako bi se pokazalo postoji li zagađenje teškim metalima te također postoji li razlika između koncentracija u uzorcima s obzirom na težinu rata zahvaćenog područja u Osječko-baranjskoj županiji. Međutim, rezultati su pokazali da nema ozbiljnije kontaminacije područja. Prisutne su manje abnormalnosti u tlu poput povišenog arsena, žive, olova i antimona, zatim povišenog arsena i željeza u vodi, te povišenog arsena u uzorcima maslačka. Također, područja visokog intenziteta borbenih aktivnosti pokazala su povišene koncentracije arsena, žive i olova u uzorcima. Neka od naselja koja se u istom istraživanju definiraju kao područje izloženo borbenim aktivnostima visokog intenziteta su Vladislavci, Čepin, Dalj i Osijek (22).

Zanimljivo je kako je ovo istraživanje pokazalo da je koncentracija cinka u kosi značajno viša u Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku u odnosu na ostala naselja. Analiza uzorka kose ima nekoliko prednosti u odnosu na uzorke seruma. Koncentracija Zn u uzorku kose je oko 100 puta veća nego u serumu te stabilnije održava koncentracije nego serum, što ga čini savršenim za procjenu dugotrajne izloženosti. Osim toga, uzorak kose bolje odražava nedavno prekomjerno izlaganje metalima jer se kationi brzo prenose iz krvi u pohranu tkiva (32). No, referentne vrijednosti koncentracije cinka u kosi još nisu definirane (28).

Koncentracija cinka u urinu pokazala se znatno viša u Virovitici, a niža u Našicama u odnosu na druga naselja. Virovitica je, osim znatno više koncentracije cinka u kosi, skupa s Vukovarom i Vinkovcima pokazala i znatno više koncentracije cinka u serumu. Cink u urinu dobar je pokazatelj povećane izloženosti cinku ukoliko su bazalne vrijednosti unosa cinka zadovoljene (28). Referentne vrijednosti cinka u urinu su 150 – 650 $\mu\text{g}/\text{dan}$ (33), te usporedbom izmjerenih medijana koncentracija cinka u urinu i referentne vrijednosti, vidimo kako je izmjerena koncentracija u Virovitici viša od tog raspona, a u Našicama niža. Našice stoga pokazuju pomalo paradoksalan nalaz, gdje je koncentracija cinka u urinu značajno niža u odnosu na ostatak naselja, a koncentracija cinka u kosi značajno viša kao što je i u Dalju, Čepinu i Osijeku.

Neka od mogućih objašnjenja za značajnu razliku u koncentracijama među naseljima su prirodni sastav tla koji se odražava u uzgojenim biljkama, blizina industrijskih pogodna, blizina prometnica i primjena gnojiva koja sadrže cink u agronomiji.

Unos cinka hranom najvažniji je način unosa cinka, a deficijencija cinka je široko rasprostranjena u svijetu. Područja s najvećom incidencijom deficijencijom cinka u svijetu su zemlje Bliskog istoka te većina zemalja nižeg socioekonomskog statusa. Deficijencija cinka u populaciji takvog područja objašnjava se prehranom koja se uglavnom temelji na žitaricama. Žitarice su bogate fitatima i fosfatima koje vezanjem cinka smanjuju bioraspoloživost cinka u organizmu (1). Pšenica je najzastupljenija kultura u svijetu te se često uzgaja na siromašnim tlima što rezultira niskim sadržajem cinka u jestivim dijelovima biljke. Agronomska biofortifikacija je najjednostavniji način povećavanja koncentracije cinka i drugih deficitarnih nutrijenata u usjevima. Na taj način moguće je riješiti problem deficijencije cinka u usjevima kao što je pšenica, te posljedično i problem deficijencije cinka u populaciji (34). Prosječna koncentracija cinka u tlima je 5 – 20 mg/kg te se vjeruje da je 50 % tala koja se koriste kao obradive površine deficitarno cinkom (35). Mjerenjem koncentracija cinka na području kontinentalne Hrvatske iz ukupno 617 uzoraka tla pronađena je srednja vrijednost koncentracije cinka koja iznosi 75 – 90 mg/kg tla (34). Prema Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog tla od onečišćenja, tlo kontinentalne Hrvatske nije deficitarno cinkom. Utvrđena vrijednost koncentracije cinka u tlu istočne Hrvatske iznosi 64,13 mg/kg, što je manje od maksimalno dopuštenih koncentracija propisanih Pravilnikom o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (35). Bioraspoloživost elemenata u biljkama ne ovisi samo o koncentraciji elemenata u tlu, nego o fizikalnim i kemijskim svojstvima tla te o vrsti uzgajane biljke. Tradicionalan uzgoj bilja temelji se na uzgoju bilja koje ostvaruju veći prinos, dok istovremeno dolazi do smanjivanja nutritivnih mikroelemenata u biljci (34). No, na području istočne Hrvatske izmjerene koncentracije cinka u biljkama nalaze se u rangu srednje opskrbljenosti te blizu granice visoke opskrbljenosti cinkom. Takav rezultat sugerira kako prilikom uzgoja biljaka na takvom tlu ne bi trebalo biti nedostatka raspoloživog cinka (35).

Spomenuta ratna zbivanja vjerojatno imaju neznatan utjecaj na sastav izmjerenih koncentracija u uzorcima. Jedno istraživanje pokazalo je kako ne postoji značajna razlika u koncentracijama metala u prikupljenim maslačcima između lokacija visokog i lokacija niskog intenziteta ratovanja. Maslačak je odličan indikator s visokom tolerancijom na onečišćenje te

dobro odražava razinu onečišćenja okoliša (36). Slični rezultati dobiveni su mjerenjem koncentracija metala u kupusu gdje je ukazano kako ukupna opterećenost teškim metalima kao posljedica Domovinskog rata nije visoka u istočnoj Hrvatskoj. Mjesta koja su se u istraživanju istaknula s visokim koncentracijama metala mjerenih u kupusu su Dalj i Dopsin. Ipak, mjerenje koncentracije metala u biljkama ovisi o nizu faktora kao što su pH tla, prisutnost mikroorganizama, duljini i opsegu kontaminacije (37). Također, istraživanje koje je uspoređivalo koncentracije cinka u kupusu i krumpiru s područja koje nije bilo zahvaćeno Domovinskim ratom i onog koje je bilo zahvaćeno Domovinskim ratom pokazuje da nema značajne razlike u koncentracijama cinka između povrća ta dva područja. Takav nalaz se objašnjava činjenicom da je populacija za vrijeme rata značajno smanjena, a poljoprivredna i industrijska proizvodnja su potpuno zaustavljene (38). Mjerenje koncentracije cinka u tlu u okolini Zagreba pokazalo je više koncentracije u tlu uz rijeku Savu te u blizini zračne luke i glavne industrijske četvrti (39). Ipak, drugo istraživanje pokazalo je kako je tlo uz rijeku Savu u sjeverozapadnoj Hrvatskoj prosječne koncentracije cinka u usporedbi s ostalim svjetskim tlima. Mjerenja sastava tla uz rijeku Dravu u sjeverozapadnoj Hrvatskoj pokazala su značajno visoke koncentracije cinka. Pretpostavlja se da je značajno visoka koncentracija cinka, olova i kadmija uz Dravu posljedica aktivnosti metalne industrije u Austriji i Sloveniji koje se nalaze uzvodno (40). Izrazito visoke koncentracije cinka pronađene su u tlu uz rijeku Dunav u neposrednoj blizini jednog industrijskog grada u Mađarskoj. Koncentracija cinka u tlu viša je od dopuštene za Mađarsku. Izmjerena koncentracija cinka u grašku uzgajanom na takvom tlu ima povišeni indeks zdravstvenog rizika za djecu (41).

Premda je opterećenje okoliša teškim metalima važan javnozdravstveni problem, za cink možemo reći da je deficijencija cinka puno veći svjetski problem. Susjedna zemlja Srbija istraživanjem je pokazala kako je populacija Srbije pod velikim rizikom od deficijencije cinkom. Koncentracije cinka u serumu populacije Srbije dvostruko su manje u odnosu na druge populacije svijeta. S obzirom na referentnu vrijednost cinka u serumu (800 – 1200 µg/L), izmjerene srednje vrijednosti koncentracije cinka u serumu pokazuju kako se zemlje poput Poljske, Njemačke, Francuske i Sjedinjenih Američkih Država nalaze unutar referentnih vrijednosti, dok se Srbija, Španjolska, Italija i Grčka nalaze ispod definiranih referentnih vrijednosti (4).

S obzirom na spol, u ovom istraživanju značajno su više koncentracije cinka kod muškaraca u serumu, dok razlike u koncentraciji cinka u kosi i urinu nisu značajne prema spolu. Brojna

istraživanja došla su do istih rezultata, no rezultati variraju. Objašnjenje za višu koncentraciju cinka u serumu kod muškaraca je visoka koncentracija cinka u prostati i sjemenu za održavanje normalne fiziologije sjemena (42). Također preporučeni dnevni unos cinka viši je za muškarce nego za žene (13).

Ispitanici u dobi do 60 godina u ovom istraživanju imaju značajno više koncentracije cinka u kosi u odnosu na starije od 60 godina, dok stariji od 60 godina imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu u odnosu na mlađe ispitanike. Rezultati drugih istraživanja pokazuju raznolike i proturječne rezultate serumskih koncentracija cinka u odnosu na dob (42). Istraživanja pokazuju kako koncentracija cinka u kosi linearno raste do dobi od 30 godina (43), a nakon 30. godine koncentracija cinka u kosi pada linearno (44).

Stariji ljudi su često podložni nastanku deficijencije cinka te se pretpostavlja da tek 42,5 % starijih od 71 godinu uzima adekvatne količine cinka. Razlozi tome su otežano žvakanje hrane, psihosocijalni čimbenici, interakcije lijekova te kompeticija cinka i drugih dvovalentnih minerala za prijenos na membranama (1).

S obzirom na profesionalnu izloženost, ispitanici koji su profesionalno izloženi u ovom istraživanju imaju značajno niže koncentracije cinka u serumu i urinu, dok su im značajno više koncentracije u kosi u odnosu na ispitanike koji nisu profesionalno izloženi. Pod profesionalnom izloženošću u anketi su ponuđeni industrijski pogoni, industrijski pogoni metalne industrije, odlagališta otpada, rad na velikim prometnicama te rad na benzinskoj postaji. U drugoj studiji povišene koncentracije cinka u kosi izmjerene se u radnika tvornice traktora. Međutim procjena izloženost metalima na radnom mjestu pomoću koncentracije metala u kosi trebala bi se raditi usporedo s izmjerenim koncentracijama metala u zraku. Sastav metala u kosi ovisi o čistoći kose i učestalosti pranja kose, pušenju cigareta te je odraz prehrane ispitanika (45).

S obzirom na prijašnje bolesti, u ovom istraživanju nije bilo značajnih razlika u koncentraciji cinka u serumu, kosi i urinu između ispitanika koji izjavljuju da su imali bolesti te onih koji ih nisu imali. Ovakvi rezultati nisu iznenađujući s obzirom na rezultate brojnih studija koja su kontradiktorni. Neka istraživanja upućuju na smanjenu razinu cinka u serumu kod bolesnika s aterosklerozom i kardiovaskularnim bolestima, dok rezultati drugih istraživanja upućuju na suprotno. Također, opisana je povišena razina cinka u kosi kod preživjelih od infarkta, a niža koncentracija cinka opisana je u kosi kod osoba s metaboličkim sindromom. Niže

koncentracije cinka u urinu u jednom istraživanju povezane su s višom učestalošću kardiovaskularnih bolesti (1). Također, brojne studije opisale su povezanost deficijencije cinkom i brojnih neuropsihijatrijskih bolesti. Istraživanja su pokazala nižu koncentraciju cinka u serumu u pacijenata s autizmom u odnosu na neurotipične pacijente. Koncentracija cinka u kosi nije se razlikovala između te dvije skupine pacijenata, dok u nekim drugim studijama prikazana je značajno smanjena koncentracija cinka u kosi kod pacijenata s deficitom pažnje i hiperaktivnim poremećajem te u onih s autizmom. Ipak, brojne druge studije nisu uspjele pokazati značajnu razliku u koncentracijama cinka u biološkim uzorcima između pacijenata s autizmom i neurotipičnih pacijenata. Broje studije pokazale su smanjenje koncentracije cinka u osoba s Alzheimerovom bolešću te je dokazano kako inhibitori acetilkolinesteraze koji se koriste za liječenje bolesti povišavaju koncentracije cinka u plazmi pacijenata. Također, smanjene koncentracije cinka u serumu opisane su u bolesnika s Parkinsonovom bolešću u odnosu na kontrole, dok su su povišene koncentracije cinka u kosi opisane kod osoba s depresijom, halucinacijama i paranoidnim poremećajima. Smanjene koncentracije cinka u serumu te povećane koncentracije u urinu opisane su u jednom istraživanju, a više istraživanja potvrdilo je smanjene koncentracije cinka u serumu kod osoba sa šećernom bolešću tipa 2. Također, smanjene koncentracije cinka u serumu i u kosi pronađene su kod pretilih ljudi, dok su koncentracije cinka u urinu bile visoke. Poznata je važnost cinka za reprodukcijско zdravlje muškaraca te je neplodnost u muškaraca povezana sa značajno smanjenim koncentracijama cinka u plazmi. Kronični prostatitis značajno doprinosi smanjenim koncentracijama cinka u serumu (46). Bolesti gastroenterološkog sustava nose rizik za razvoj deficijencije cinkom. Takve bolesti su sindrom iritabilnog crijeva, ulcerozni kolitis, Kronova bolest, sindrom malapsorpcije i sve kronične bolesti (28). Brojne kožne bolesti povezane su također s deficijencijom cinka. Acrodermatitis enteropathica je nasljedna bolest gdje postoji mutacija transportera cinka u crijevima i koja rezultira ozbiljnom deficijencijom cinka u organizmu, te se posljedično manifestira na svim organskim sustavima i koži. Opisana je povezanost deficijencije cinka u organizmu i usporenog cijeljenja rana na koži te bolovanja od akni, kroničnih venskih ulkusa, tvrdokornih virusnih bradavica, psorijaze vulgaris i ihtioze. Neke studije dokumentiraju povišene koncentracije cinka u biološkim uzorcima s povezanim lošijim ishodom liječenja od karcinoma, dok druge studije dokumentiraju suprotno. Istraživanja su pokazala pad serumske koncentracije cinka u osoba s karcinomom u području glave i vrata, karcinoma pluća, karcinoma cerviksa i drugih ginekoloških karcinoma. Kontradiktorni rezultati opisani su kod karcinoma dojke, pluća, želuca i prostate (1).

Ranije je spomenuta važnost suplementacije cinkom radi adekvatne funkcije imunološkog sustava te je važno spomenuti funkciju cinka u prebolijevanju COVID-19 virusa. Cink je predložen kao koristan adjuvans za terapiju COVID-19 zbog sustavnih protuupalnih, antioksidativnih i imunoregulacijskih aktivnosti, kao i uloge u zaštiti respiratornog sustava. Jedna studija koja je uključivala 249 pacijenata zaraženih s COVID-19 pokazala je značajnu korelaciju između nižih koncentracija cinka u serumu i ozbiljnosti bolesti, te su bolesnici sa serumskim cinkom nižim od 50 µg/dl imali lošiji ishod bolesti i višu smrtnost. Druga studija u Indiji pokazala je značajno viši boravak u bolnici, veću učestalost komplikacija, veću učestalost sindroma akutnog respiratornog distresa i veći mortalitet u pacijenata koji su deficitarni cinkom u odnosu na kontrolnu skupinu. Zanimljiv je nalaz jedne *in vitro* studije koja je pokazala kako cink inhibira RNA-ovisnu RNA polimerazu u SARS koronavirusu, što dovodi do smanjene replikacije virusnih čestica (46).

S obzirom na konzumaciju vode, ispitanici u ovom istraživanju koji piju vodu iz gradskog vodovoda imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu, a značajno nižu u urinu i u kosi u odnosu na one koji ne piju vodu iz gradskog vodovoda. U anketi su se ispitanici iz Vukovara, Vinkovaca, Osijeka, Slavonskog Broda i Virovitice izjasnili kako piju vodu iz gradskog vodovoda.

Nema značajnih razlika u koncentracijama cinka u urinu kod osoba koje konzumiraju vodu iz lokalnog vodovoda, a koncentracije cinka u kosi značajno su više u odnosu na one koji ne konzumiraju vodu lokalnog vodovoda. Cink u serumu značajno viši u osoba koje ne konzumiraju vodu iz lokalnog vodovoda. Vodu iz lokalnog vodovoda u anketi su izjavili da koriste stanovnici Dalja i Čepina.

U sklopu istraživanja dugotrajnih posljedica Domovinskog rata na zdravlje populacije, izmjerene su koncentracije teških metala u vodi iz lokalnih izvora vode u Osječko-baranjskoj županiji koja se koristi za ljudsku upotrebu. Pronađene su povišene koncentracije željeza, arsena i mangana, dok su ostali elementi i cink unutar dopuštenih granica (22). Medijan cinka koncentracija uzete vode svih 68 uzoraka je 43,983 µg/L, a maksimalna dopuštena koncentracija za cink u vodi za piće je 3000 µg/L. Uzorci vode prikupljeni su u šest mjesta istočne Hrvatske (47).

Značajno niže vrijednosti cinka u serumu i urinu imaju ispitanici koji konzumiraju vodu iz

bunara, dok nema razlike u koncentraciji cinka u koncentraciji kose između onih koji konzumiraju i onih koji ne konzumiraju vodu iz bunara. Ispitanici iz Vladislavaca, Dalja te 4 ispitanika iz Našica konzumiraju vodu iz bunara. Voda iz privatnih bunara nije regulirana prema nacionalnim vrijednostima te je moguće pronaći koncentracije teškim metalima više od maksimalnih dopuštenih (47).

Ispitanici koji piju kupovnu vodu imaju značajno višu koncentraciju cinka u kosi u odnosu na one koji ne piju kupovnu vodu, dok nema razlike u vrijednostima cinka u serumu i urinu između osoba koje konzumiraju kupovnu vodu i onih koji ju ne konzumiraju.

7. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Muškarci imaju značajno više koncentracije cinka u serumu, dok razlike u koncentraciji cinka u kosi i urinu nisu značajne prema spolu
- Ispitanici u dobi do 60 godina imaju značajno više koncentracije cinka u kosi, dok stariji od 60 godina imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu u odnosu na mlađe ispitanike
- Profesionalno izloženi ispitanici imaju značajno niže koncentracije cinka u serumu i u urinu, dok su im koncentracije u kosi značajno više u odnosu na ispitanike koji nisu profesionalno izloženi
- Nema značajnih razlika u koncentraciji cinka u serumu, kosi i u urinu u odnosu na prijašnje bolesti
- Ispitanici koji piju kupovnu vodu imaju značajno višu koncentraciju cinka u kosi, dok u koncentracijama seruma i urina nema značajnih razlika u odnosu na konzumiranje kupovne vode
- Ispitanici koji piju vodu iz gradskog vodovoda imaju značajno višu koncentraciju cinka u serumu, a značajno nižu koncentraciju u urinu i kosi u odnosu na one koji ne piju vodu iz gradskog vodovoda
- Značajno niže vrijednosti cinka u serumu i više u urinu imaju ispitanici koji konzumiraju vodu iz bunara, a u koncentracijama kose nema razlike između onih koji konzumiraju vodu iz bunara i onih koji ne konzumiraju
- Nema značajnih razlika u koncentracijama cinka u urinu s obzirom na konzumiranje vode iz lokalnog vodovoda, cink u serumu je značajno viši kod ispitanika koji ne konzumiraju vodu iz lokalnog vodovoda, a oni koji konzumiraju vodu lokalnog vodovoda imaju značajno viši cink u kosi
- Značajno je najviša koncentracija cinka u serumu u Vukovaru i Vinkovcima u odnosu na sva druga mjesta osim u Virovitici, a značajno najniža u Vladislavcima
- Koncentracija cinka u kosi je viša u Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku u odnosu na druga naselja
- Koncentracija cinka u urinu značajno je viša u Virovitici, a niža u Našicama

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Cilj istraživanja je ispitati vrijednosti koncentracija cinka u serumu, urinu i kosi u populaciji istočne Hrvatske te dobivene koncentracije povezati s dobi, spolom, prethodnim bolestima, profesionalnom izloženošću, prebivalištem i konzumacijom vode.

Nacrt studije: Istraživanje je presječno.

Ispitanici i metode: Istraživanje je provedeno na 601 nasumično odabranih ispitanika iz baza pacijenata ordinacija obiteljske medicine. Uzorci su prikupljeni 2010. godine u Vladislavcima, Dalju, Čepinu, Našicama, Osijeku, Vukovaru, Vinkovcima, Slavanskom Brodu a 2020. godine u Virovitici. Ispitanici su ispunili standardizirani anketni upitnik koji se sastojao od 14 pitanja, koja su obuhvaćala osnovne sociodemografske pokazatelje i navike. ICP-MS metodom analizirani su prikupljeni uzorci.

Rezultati: Postoji razlika u koncentracijama cinka s obzirom na spol i dob ispitanika. Profesionalno izloženi ispitanici imaju značajno više koncentracije cinka u kosi. Nema razlika u koncentracijama cinka u biološkim uzorcima između ispitanika koji imaju i onih koji nemaju prijašnje bolesti. Pronađene su više koncentracije cinka u serumu kod ispitanika koji konzumiraju vodu gradskog vodovoda, a kod konzumacije lokalnog vodovoda pronadene su više koncentracije u kosi. Više koncentracije cinka u serumu pronadene su u ispitanika u Vukovaru, Vinkovcima i Virovitici, urina u Virovitici, a u kosi viša je u Dalju, Čepinu, Našicama i Osijeku.

Zaključak: Unatoč tome što je cink esencijalan element koji je važan za ljudsko zdravlje, cink je također metal koji je u povišenim koncentracijama pokazatelj onečišćenja antropogenim djelovanjem. Usporedbom referentnih vrijednosti cinka u biološkim uzorcima i vrijednosti dobivenih biomonitoringom, čini se kako nema značajnog onečišćenja populacije istočne Hrvatske cinkom.

Ključne riječi: cink; Hrvatska; kosa; serum; urin

9. SUMMARY

Zinc in the population of eastern Croatia

Objectives: The aim of the research is to examine the values of zinc concentrations in serum, urine and hair in the population of eastern Croatia and to relate the obtained results to age, sex, previous diseases, professional exposure, place of residence and water consumption.

Study design: A cross-sectional study was conducted.

Participants and methods: The research was conducted on 601 randomly selected respondents from the patient databases of family medicine offices. The samples were collected in 2010 in Vladislavci, Dalje, Čepin, Našice, Osijek, Vukovar, Vinkovci, Slavonski Brod and in 2020 in Virovitica. Respondents filled out a standardized questionnaire consisting of 14 questions, which included basic sociodemographic indicators and habits. The collected samples were analyzed by the ICP-MS method.

Results: There is a difference in zinc concentrations with regard to the sex and age of the subjects. Professionally exposed subjects have significantly higher concentrations of zinc in their hair. There are no differences in zinc concentrations in biological samples between subjects with and those without previous diseases. Higher concentrations of zinc were found in serum in subjects who consumed water from the city water supply, while higher concentrations in hair were found in those consuming local water supply. Higher concentrations of zinc in serum were found in subjects from Vukovar, Vinkovci and Virovitica, urine in subjects from Virovitica and zinc levels in hair were higher in Dalj, Čepin, Našice and Osijek.

Conclusion: Despite the fact that zinc is an essential element that is important for human health, zinc is also a metal that, in elevated concentrations, is an indicator of anthropogenic pollution. By comparing the reference values of zinc in biological samples and the values obtained by biomonitoring, it seems that there is no significant contamination of the population of eastern Croatia with zinc.

Keywords: Croatia; hair; serum; urine; zinc

10. LITERATURA

1. Rink L, ProQuest. Zinc in human health. Amsterdam ; Washington, D.C: IOS Press; 2011.
2. Hou R, He Y, Yan G, Hou S, Xie Z, Liao C. Zinc enzymes in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem.* 2021;226:113877.
3. Hess SY. National Risk of Zinc Deficiency as Estimated by National Surveys. *Food Nutr Bull.* 2017;38(1):3-17.
4. Jagodic J, Rovcanin B, Borkovic-Mitic S, Vujotic L, Avdin V, Manojlovic D. i sur. Possible zinc deficiency in the Serbian population: examination of body fluids, whole blood and solid tissues. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28(34):47439-46.
5. Barceloux DG. Zinc. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1999;37(2):279-92.
6. Cassel GH. Zinc: a review of current trends in therapy and our knowledge of its toxicity. *Del Med J.* 1978;50(6):323-8.
7. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr.* 2013;4(2):176-90.
8. Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med.* 1961;31:532-46.
9. Sandstead HH, Prasad AS, Schulert AR, Farid Z, Miale A, Jr., Bassilly S, i sur. Human zinc deficiency, endocrine manifestations and response to treatment. *Am J Clin Nutr.* 1967;20(5):422-42.
10. McCord CP, Friedlander A. An Occupational Syndrome among Workers in Zinc. *Am J Public Health (N Y).* 1926;16(3):274-80.
11. Cakmak I. Zinc crops 2007 : improving crop production and human health. *Plant Soil* 2008; 306:1–2
12. Praharaj S, Skalicky M, Maitra S, Bhadra P, Shankar T, Brestic M, i sur. Zinc Biofortification in Food Crops Could Alleviate the Zinc Malnutrition in Human Health. *Molecules.* 2021;26(12).
13. Hughes DA, Darlington LG, Bendich A, *Diet and Human Immune Function.* 1. izd. Totowa, NJ: Humana Press : Imprint: Humana; 2004.
14. Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD. *DRI, dietary reference intakes : the essential guide to nutrient requirements.* Washington, D.C.: National Academies Press; 2006.
15. Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2009;12(6):646-52.

16. Hemila H. Zinc lozenges and the common cold: a meta-analysis comparing zinc acetate and zinc gluconate, and the role of zinc dosage. *JRSM Open*. 2017;8(5):2054270417694291.
17. Hurley LS, Swenerton H. Congenital malformations resulting from zinc deficiency in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1966;123(3):692-6.
18. Briefel RR, Bialostosky K, Kennedy-Stephenson J, McDowell MA, Ervin RB, Wright JD. Zinc intake of the U.S. population: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Nutr*. 2000;130(5S Suppl):1367S-73S.
19. National Institute for Occupational Safety and Health., Key MM, United States. Public Health Service. Division of Occupational Health. Occupational diseases : a guide to their recognition. Rev. ed. Washington: U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Center for Disease Control, National Institute for Occupational Safety and Health , U.S. Govt. Print. Off.; 1977.
20. Hussain S, Khan M, Sheikh TMM, Mumtaz MZ, Chohan TA, Shamim S, i sur. Zinc Essentiality, Toxicity, and Its Bacterial Bioremediation: A Comprehensive Insight. *Front Microbiol*. 2022;13:900740.
21. Salvaggio A, Marino F, Albano M, Pecoraro R, Camiolo G, Tibullo D, i sur. Toxic Effects of Zinc Chloride on the Bone Development in *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Front Physiol*. 2016;7:153.
22. Vidosavljevic D, Puntaric D, Gvozdic V, Jergovic M, Jurcev-Savicevic A, Puntaric I, i sur. Trace metals in the environment and population as possible long term consequence of war in Osijek-Baranja County, Croatia. *Coll Antropol*. 2014;38(3):925-32.
23. Bartkowiak A, Lemanowicz J, Breza-Boruta B. Evaluation of the content of Zn, Cu, Ni and Pb as well as the enzymatic activity of forest soils exposed to the effect of road traffic pollution. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017;24(30):23893-902.
24. Hallmans G. Treatment of burns with zinc-tape. A study of local absorption of zinc in humans. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1977;11(2):155-61.
25. Mills CF, International Life Sciences I. Zinc in human biology. 1. izd. Heidelberg: Springer-Verlag; 1989.
26. Lee DY, Prasad AS, Hydrick-Adair C, Brewer G, Johnson PE. Homeostasis of zinc in marginal human zinc deficiency: role of absorption and endogenous excretion of zinc. *J Lab Clin Med*. 1993;122(5):549-56.
27. Poddalgoda D, Macey K, Hancock S. Derivation of biomonitoring equivalents (BE values) for zinc. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2019;106:178-86.

28. King JC, Brown KH, Gibson RS, Krebs NF, Lowe NM, Siekmann JH, i sur. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND)-Zinc Review. *J Nutr.* 2015;146(4):858S-85S.
29. Brouwers EE, Tibben M, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH. The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in clinical pharmacological oncology research. *Mass Spectrom Rev.* 2008;27(2):67-100.
30. Thomas R. Practical guide to ICP-MS. New York, N.Y: Marcel Dekker; 2004.
31. Bijelić L. Opterećenje okoliša istočne Hrvatske onečišćenjem metalima i metaloidima [Disertacija]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. 2020.
32. Dziedzic EA, Gasior JS, Tuzimek A, Paleczny J, Kwasny M, Dabrowski M, i sur. No Association of Hair Zinc Concentration with Coronary Artery Disease Severity and No Relation with Acute Coronary Syndromes. *Biomolecules.* 2022;12(7).
33. Cunnane SC. Zinc : clinical and biochemical significance. Boca Raton, Fla: CRC Press; 1988.
34. Martić M. Biofortifikacija pšenice željezom i cinkom [Disertacija]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera Osijeku. 2018
35. Kraljević D. Biofortifikacija soje cinkom [Magisterij]. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. 2018
36. Bijelić L, Gvozdić V, Vidosavljević D, Lončarić Z, Puntarić A, i sur. . Maslačak (*Taraxacum officinale*) kao mogući pokazatelj ratnih onečišćenja u istočnoj Hrvatskoj *Acta Med Croatica.* 2017;17:25-32.
37. Jurić D, Gvozdić V, Vidosavljević D, Lončarić Z, Puntarić A, i sur. Kupus (*Brassica Olecranea* var. *Capitata*) jedan od mogućih pokazatelja ratom uzrokovanih onečišćenja okoliša u Istočnoj Hrvatskoj. *Med Jad.* 2017;47(1):39-48.
38. Vitale D, Šebečić B, Validžić , Kennedy-Stephenson J. Assesment of toxic and potentially toxic elements in potato and cabbage grown in different locations in Croatia. *Deutsche Lebensmittel Rundschau.* 2007;103:424-30.
39. Romic M, Romic D. Heavy metals distribution in agricultural topsoils in urban area. *Environmental Geology.* 2003;43(7):795-805.
40. Halamić, J., Galović, L. i Šparica, M. Heavy Metal (As, Cd, Cu, Hg, Pb and Zn) Distribution in Topsoil Developed on Alluvial Sediments of the Drava and Sava Rivers in NW Croatia. *Geologia Croatica,* 2003; 56 (2), 215-232
41. Kovacs-Bokor E, Domokos E, Biro B. Toxic metal phytoextraction potential and

health-risk parameters of some cultivated plants when grown in metalcontaminated river sediment of Danube, near an industrial town. *Environ Geochem Health*. 2021;3:2317–2330.

42. Barman N, Salwa M, Ghosh D, Rahman MW, Uddin MN, Haque MA. Reference Value for Serum Zinc Level of Adult Population in Bangladesh. *EJIFCC*. 2020;31(2):117-24.
43. Ha BJ, Lee GY, Cho IH, Park S. Age- and sex-dependence of five major elements in the development of human scalp hair. *Biomater Res*. 2019;23:29.
44. Folin M, Contiero E, Vaselli GM. Trace element determination in humans. The use of blood and hair. *Biol Trace Elem Res*. 1991;31(2):147-58.
45. Vinnikov D, Semizhon S, Rybina T, Zaitsev V, Pleshkova A, Rybina A. Occupational exposure to metals and other elements in the tractor production. *PLoS One*. 2018;13(12):e0208932.
46. Skalny AV, Aschner M, Tinkov AA. Zinc. *Adv Food Nutr Res*. 2021;96:251-310.
47. Jergovic M. Prisutnost metala i drugih rijetkih elemenata i utjecaj na zdravlje stanovništva Istočne Hrvatske [Disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu; 2011.

11. ŽIVOTOPIS

Opći podaci:

Datum i mjesto rođenja: 16. studenog 1996., Bjelovar

Adresa: Jozefa Maliaka 6, 32236 Ilok

Telefon: +385 98 189 8245

E-mail: petraivancevic100@gmail.com

Školovanje:

2003.-2011. Osnovna škola Julije Benešića, Ilok

2011.-2015. Opća gimnazija, Srednja škola Ilok

2015.- 2022. Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij medicine, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Ostale aktivnosti:

2021. - sudjelovanje na kongresu NeuRi

2022. - sudjelovanje na kongresima OSCON i na 8. Hrvatskom kongresu debljine

2. PRILOZI

12.1. Anketni upitnik

Liječnik obiteljske medicine:

1. SPOL: M Ž

2. DOB (godine):

3. PUŠAČ:

- a) DA (izrazit preko 20 cigareta dnevno)
- b) DA (umjeren do 20 cigareta dnevno)
- c) NE

4. KONZUMIRATE ALKOHOLNA PIĆA:

- a) NE uopće
- b) DA umjeren (manje od 5 čaša/čašica tjedno)
- c) DA (više od 5 čaša/čašica tjedno)

5. KONZUMIRATE VODU:

- a) Iz javnog vodovodnog sustava (gradski vodovod)
- b) Iz lokalnog vodovodnog sustava (mali «seoski» vodovod)
- c) Iz bunara (vlastitog ili zajedničkog za više obitelji)
- d) Ostalo (kupovna voda,...)

6. DA LI STE BORAVILI (duže od godinu dana) ILI BORAVITE U BLIZINI:

- a) U blizini industrijskih pogona
- b) U blizini industrijskih pogona metalne industrije
- c) Odlagališta otpada
- d) Velikih prometnica sa gustim prometom vozila na fosilna goriva
- e) Benzinskih postaja (crpki)

f) Ostalo: _____

e) Ne

7. DA LI STE U PROFESIONALNOM ŽIVOTU, PREMA VAŠIM SAZNANJIMA ZNAČAJNO IZLOŽENI ŠTETNIM TVARIMA I KOJIM?

a) Štetnim metalima (živa, olovo, kadmij, arsen...)

b) Pesticidima i sličnim tvarima (polikloriranim bifenilima, dioksinima...)

c) Fosilnim gorivima ili njihovim ispušnim plinovima

d) Ostalo: _____

e) Ne

8. DA LI OSJEĆATE SMETNJE ILI SE LIJEČITE OD POSLJEDICA IZLOŽENOSTI ŠTETNIM TVARIMA:

a) DA

b) NE

c) Ako želite napišite dodatno pojašnjenje:

9. SKUPINE ISPITANIKA:

1. Branitelji, ranjeni ili koji su bili u višestrukom (dugotrajnom, redovitom) kontaktu s pješadijsko-eksplozivnim sredstvima (pješađijsko streljivo, minsko-eksplozivne naprave, topničko-tenkovski projektili i sl.)

2. Branitelji koji nisu bili u kontaktu s pješadijsko-eksplozivnim sredstvima (npr. sanitet, kuhari, vozači, opskrba intendantskim sredstvima i materijalima itd.)

3. Civili ranjeni pješadijsko-eksplozivnim sredstvima; civili koji su tijekom rata bili u višestrukom kontaktu s istim sredstvima; ostali civili iz područja koja su bila zahvaćena neposrednim ratnim zbivanjima.

4. Civili iz područja koja su nisu bila zahvaćena neposrednim ratnim zbivanjima.

5. Civili koji su 1991.–1995. imali 2 do 14 godina iz područja koja su bila zahvaćena neposrednimratnim zbivanjima.

6. Civili koji su 1991.–1995. imali 2 do 14 godina iz područja koja su nisu bila zahvaćena neposrednim ratnim zbivanjima.

10. KAO VOJNIK BILI STE:

- a) Pješništvo
- b) Topništvo
- c) Oklopno mehanizirane postrojbe
- d) Inženjerija
- e) Veza
- f) ABKO (atomska-biološka-kemijska obrana)
- g) Postrojbe za elektronsko djelovanje
- h) Zrakoplovstvo
- i) Mornarica
- j) ZMIO (zemaljsko motrenje i osmatranje)
- k) Održavanje elektronske opreme
- l) Održavanje mehaničke i električne opreme
- m) Opskba
- n) Zdravstveni i veterinarski poslovi
- o) Administrativni poslovi
- p) Ostalo: _____

11. JESTE LI TIJEKOM RATA BILI RANJENI?:

- a) DA
- b) NE

12. BILI STE RANJENI:

- a) Eksplozivnom napravom topničko-tenkovskog tipa (granata,...)
- b) Pješadijskim streljivom (pištolj, mitraljez, puška, snajper,...)
- c) Ručna bomba
- d) Nagazna mina
- e) Ostalo: _____

13. TIJEKOM RATA BORAVILI STE:

- a) U Istočnoj Hrvatskoj na područjima zahvaćenim ratnim djelovanjima
- b) Uz granicu sa Srbijom (ili u Srbiji) gdje je bilo ratnih djelovanja
- c) Uz granicu sa BiH (ili u BiH) gdje je bilo ratnih djelovanja
- d) NE nisam boravio na područjima zahvaćenim ratom
- e) ostalo_____

14. POPIS DIJAGNOZA IZ LIJEČNIČKOG KARTONA U POSLJEDNJIH 10 GODINA: