

SVEUČILIŠTE U RIJECI
FAKULTET BIOTEHNOLOGIJE I RAZVOJA LIJEKOVA

Ivan Dolanc

**UTJECAJ DUGOTRAJNE PRIMJENE
KLINOPTILOLITA NA RAZINE METALA,
MAKRO- I MIKRO- NUTRIJENATA U
KRVI I TKIVIMA ŠTAKORA**

DOKTORSKI RAD

Rijeka, 2025.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
FAKULTET BIOTEHNOLOGIJE I RAZVOJA LIJEKOVA

Ivan Dolanc

**UTJECAJ DUGOTRAJNE PRIMJENE
KLINOPTILOLITA NA RAZINE METALA,
MAKRO- I MIKRO- NUTRIJENATA U
KRVI I TKIVIMA ŠTAKORA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Krešimir Pavelić, dr. med.

Komentor: dr. sc. Miran Čoklo, dr. med.

Rijeka, 2025.

UNIVERSITY OF RIJEKA
FACULTY OF BIOTECHNOLOGY AND DRUG
DEVELOPMENT

Ivan Dolanc

**THE EFFECT OF LONG-TERM USE OF
CLINOPTILOLITE ON THE
LEVELS OF METALS, MACRO- AND
MICRO-NUTRIENTS IN THE
BLOOD AND TISSUES OF RATS**

DOCTORAL THESIS

Rijeka, 2025

Mentor rada: prof. dr. sc. Krešimir Pavelić, dr. med.

Komentor rada: dr. sc. Miran Čoklo, dr. med.

Doktorski rad obranjen je dana _____ 2025. godine na Fakultetu biotehnologije i razvoja lijekova, Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Doktorska disertacija sadrži: 181 stranicu, 29 slika, 6 tablica, 2 priloga i 231 literaturna izvora.

Ovo doktorsko istraživanje izrađeno je u najvećem dijelu u Jedinici za laboratorijske životinje i u laboratoriju Zavoda za medicinu rada i okoliša, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb. U manjem dijelu je istraživanje provedeno u Laboratoriju za kemijsku analitiku pri Centru za primijenjenu bioantropologiju na Institutu za antropologiju u Zagrebu. Financiranje istraživanja je omogućeno kroz međunarodni projekt „Effect of PMA-Zeolite-Clinoptilolite on the mineral metabolism and selected blood parameters“ („Učinak PMA-zeolita-klinoptilolita na metabolizam minerala i odabrane parametre krvi“) voditeljice prof.dr.sc. Sandre Kraljević Pavelić.

ZAHVALA

Iza svake stranice ovog doktorskog rada stoji više od samo znanstvenog truda – stoje ljudi, trenuci, podrške i tišine, koje su mi dale snagu da ustrajem.

Hvala mojim mentorima, prof. dr. sc. Krešimiru Paveliću i dr. sc. Miranu Čoklu, na usmjerenju, strpljenju i poticajima, koji su oblikovali moj znanstveni put. Hvala i prof. dr. sc. Sandri Kraljević Pavelić na vrijednim savjetima i konstruktivnim pogledima. Posebno zahvaljujem dr. sc. Vedranu Miceku i dr. sc. Tatjani Orct na podršci tijekom istraživačkog procesa i pomoći u razradi važnih segmenata ovog rada.

Neizmjereno hvala dragoj kolegici i prijateljici, dr. sc. Lejli Ferhatović Hamzić, na nesebičnoj pomoći, stručnosti i prisutnosti, koja je često značila više nego što riječi mogu izraziti. Ovaj rad ne bi bio moguć bez tebe.

Zahvaljujem i kolegicama i kolegama s Instituta za antropologiju – na zajedničkim trenucima, suradnji, savjetima, ali i onim sitnim svakodnevnim gestama koje su činile razliku. U vašem društvu, ova znanstvena priča bila je bogatija i lakša, a pripadnost zajednici koja dijeli znanje i podršku neprocjenjiva je.

Posebno mjesto u ovoj zahvali zauzimaju i svi oni trenuci kada je bilo teško, kada su se preispitivanja nadvijala nad stranicama, a sumnje dolazile i izvana i iznutra. Upravo zahvaljujući takvim trenucima, i ponekim tihim očekivanjima da neću uspjeti, probudio se u meni dodatni val snage, volje i želje da dokažem – ponajprije sebi – da mogu. Hvala i na toj vrsti poticaja, iako neizrečenog.

Duboko zahvaljujem Ljubavi – onoj koja je bila uz mene u trenucima kad sam bio najnemirniji, kad su odgovori izostajali, a frustracija rasla. Hvala na razumijevanju, tišini kad je trebalo, riječima kad su bile nužne i prisutnosti koja liječi. U različitim oblicima, ta je ljubav bila oslonac.

Najveća hvala pripada mojim roditeljima Dragici i Željku, na bezuvjetnoj podršci, povjerenju, razumijevanju i ljubavi koja nije tražila objašnjenje. Biti vaš sin moja je sreća i moja snaga.

SAŽETAK

Panaceo-mikroaktivirani (PMA) zeolit se pokazao kao snažni adsorbens, ionski izmjenjivač i antidijaroik u probavnom traktu. On apsorbira štetne tvari (teške metale i amonijeve ione) uz istovremeno oslobađanje alkalnih iona iz svoje kristalne rešetke, pri čemu dolazi do jačanja crijevne barijere. U okviru ove doktorske disertacije istražen je utjecaj dvanaesto-tjedne suplementacije visoke koncentracije PMA-zeolita na mineralni sastav štakora. Korištenjem induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (ICP-MS) izmjerene su koncentracije mineralnih makro i mikro nutrijenata, te teških metala u mozgu, jetri, bubregu, femuru, tankom i debelom crijevu, te punoj krvi i serumu ženki Wistar štakora (n=10). Pozitivnu kontrolu su činile skupine čija prehrana je suplementirana jednostruko aktiviranim klinoptilolitom (n=10), ili komercijalnim umjetno sintetiziranim zeolitom (Ludox-40) (n=10), a negativnu kontrolu je činila skupina ženki štakora koje su dobivale podjednaki volumen čiste vode (n=10). Rezultati su pokazali da dugotrajno korištenje velikih doza PMA-zeolita nema negativni utjecaj na sastav mikro i makro nutrijenata, a da istovremeno potiče detoksikaciju čišćenjem teških metala iz organizma ženki štakora.

Ključne riječi: ICP-MS, klinoptilolit, makronutrijenti, mikronutrijenti, teški metali

SUMMARY

Panaceo-microactivated (PMA) zeolite has proven to be a powerful adsorbent, ion exchanger and antidiarrheal effector in the digestive tract. It absorbs harmful substances (heavy metals and ammonium ions) while simultaneously releasing alkaline ions from their crystal lattice, thereby strengthening the intestinal barrier. Within the framework of this doctoral dissertation, we investigated the influence of twelve-week supplementation with a high concentration of PMA-zeolite on the mineral composition of rats. Using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), the concentrations of mineral macro and micronutrients, and heavy metals in the brain, liver, kidney, femur, small and large intestine, as well as whole blood and serum of Wistar rats (n=10) were measured. The positive control consisted of groups supplemented with singly activated clinoptilolite (n=10) or commercially available artificially synthesized zeolite (Ludox-40) (n=10), and the negative group consisted of rats receiving an equal volume of pure water (n=10). The results showed that the long-term use of large doses of PMA-zeolite does not have a negative effect on the composition of micro and macro nutrients, while at the same time it promotes detoxification by eliminating heavy metals from the rat's body.

Key words: Clinoptilolite, heavy metals, ICP-MS, macronutrients, micronutrients

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 Zeoliti	1
1.2 Prirodni zeoliti	7
1.3 Sintetizirani zeoliti	10
1.3.1 Klinoptilolit	14
1.3.2 PMA - zeolit	18
1.4 Multielementalna analiza.....	21
1.5 Makronutrijenti	23
1.5.1 Kalcij	25
1.5.2 Kalij.....	27
1.5.3 Magnezij	29
1.5.4 Natrij	31
1.5.5 Fosfor	33
1.6 Mikronutrijenti.....	34
1.6.1 Bakar	36
1.6.2 Željezo	38
1.6.3 Mangan	40
1.6.4 Selenij.....	41
1.6.5 Cink	42
1.7 Teški metali.....	43
1.7.1 Aluminij.....	45
1.7.2 Arsen	46
1.7.3 Kadmij	48
1.7.4 Kobalt	49
1.7.5 Nikal	50

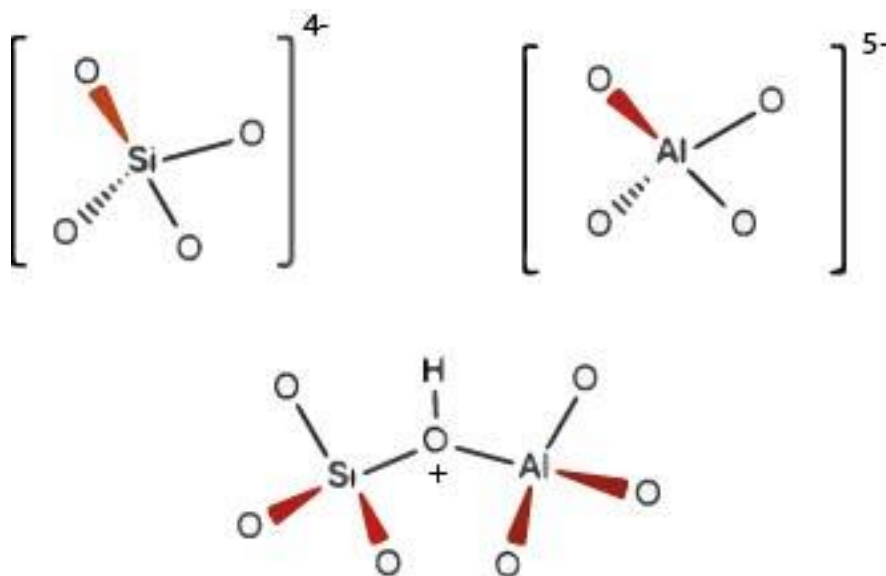
1.7.6 Olovo	52
1.7.7 Stroncij	54
2. HIPOTEZE I CILJEVI RADA.....	56
3. MATERIJALI I METODE.....	57
3.1 Eksperimentalne životinje	57
3.1.1 Pripravci zeolita	57
3.1.2 Primjena pripravaka zeolita	58
3.1.3 Skupine štakora.....	60
3.2 Multielementalna analiza.....	60
3.2.1 Uzimanje uzoraka tkiva za kemijsku analizu	60
3.2.2 Priprema uzoraka tkiva za kemijsku analizu	61
3.2.3 Priprema standardnih otopina za multielementalnu analizu	62
3.2.4 Instrumentalni parametri za multielementalnu analizu.....	62
3.3 Statistička obrada podataka	65
3.4 Etička pitanja.....	65
4. REZULTATI.....	67
4.1 Fiziološke značajke eksperimentalnih životinja	67
4.2 Makronutrijenti	68
4.2.1 Kalcij.....	69
4.2.2 Kalij.....	71
4.2.3 Magnezij	73
4.2.4 Natrij	75
4.2.5 Fosfor	77
4.3 Mikronutrijenti.....	79
4.3.1 Bakar	80

4.3.2 Željezo	82
4.3.3 Mangan	84
4.3.4 Selenij.....	86
4.3.5 Cink	88
4.4 Teški metali.....	90
4.4.1 Aluminij.....	91
4.4.2 Arsen	93
4.4.3 Kadmij	95
4.4.4 Kobalt	97
4.4.5 Nikal	99
4.4.6 Olovo	101
4.4.7 Stroncij	103
5. RASPRAVA	105
6. ZAKLJUČCI	110
6. POPIS LITERATURE	111
7. PRILOZI	130
9. POPIS PUBLIKACIJA.....	159
10. ŽIVOTOPIS	167

1. UVOD

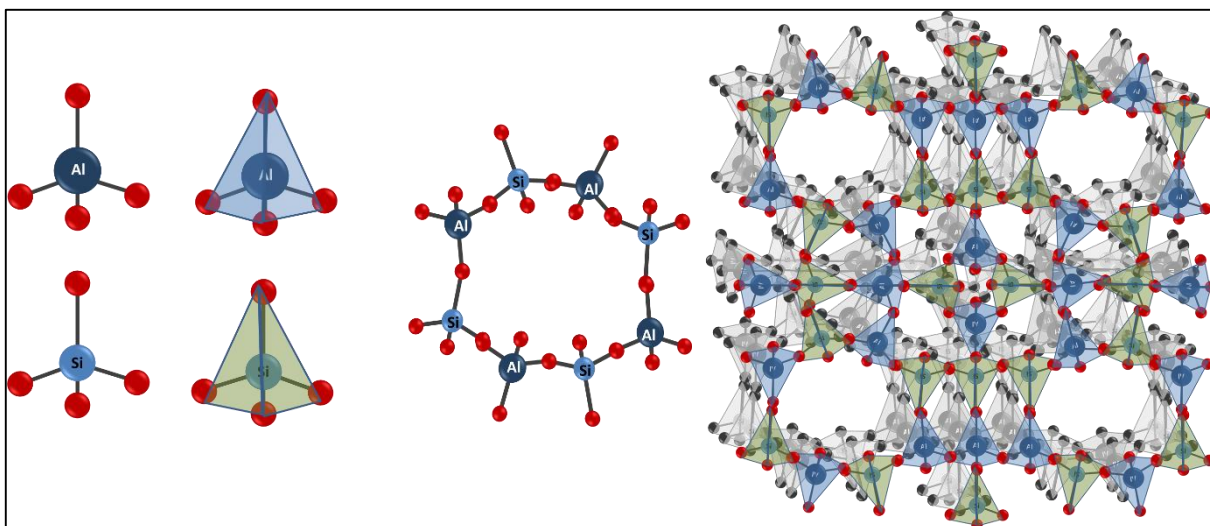
1.1 Zeoliti

Zeoliti su kristalni hidratizirani aluminosilikati alkalijskih i zemnoalkalijskih kationa. Sam naziv zeolit osmislio je Cronstedt 1756. godine od grčkih riječi „*zein*“ (kuhati) i „*lithos*“ (stijena), potaknut činjenicom da prilikom zagrijavanja prirodnog minerala on bubri, a njegove čestice se gibaju (intumesciraju) uslijed gubitka molekula vode u obliku pare [1].



Slika 1. Tetraedarski raspored Si-O i Al-O veza u kristalnoj rešetci zeolita.

Strukturalno, zeoliti se sastoje od otvorenih trodimenzionalnih struktura izgrađenih od tetraedara silicijevih (SiO_4) i aluminijevih (AlO_4) oksida. Ovi tetraedri međusobno su povezani preko jednog do tri zajednička atoma kisika (slika 1.), što otvara mogućnost izgradnje širokog spektra mogućih struktura, jer je molekulska mreža aluminosilikata proširena u tri dimenzije (slika 2.) [2].



Slika 2. Građevne jedinice trodimenzionalnih zeolitnih struktura. Atomi kisika su označeni crvenom bojom. (prilagođeno s mrežne stranice <https://chembam.com/online-resources/gcse-resources/cages/>, pristupljeno u studenom 2022.).

Sve prethodno navedeno je osnova za izgradnju dobro poznate mikroporozne strukture zeolita isprepletene sitnim kanalima i prazninama dimenzija od 0,2 do 1 nm. Šupljine unutar zeolitnih materijala sadrže metalne katione (često ione natrija (Na), kalija (K) i magnezija (Mg)), koji kompenziraju negativni naboj okvira i lako se oslobađaju iz zeolitne molekulske rešetke te sadrže vodu koja se zagrijavanjem gubi bez narušavanja kristalne rešetke. Ovakva specifična struktura zeolita čini ih izuzetno efikasnim ionskim izmjenjivačima, koji po porijeklu mogu biti prirodni i sintetizirani [3,4].

Struktura zeolita je izuzetno heterogena, što otežava njihovu klasifikaciju. Stoga se trenutačno u znanstvenoj zajednici paralelno koristi nekoliko klasifikacijskih shema, ovisno o njihovim kristalnim strukturama, morfološkim sličnostima i dr. [5]. Povjerenstvo za strukturu Međunarodne udruge za zeolite (engl. *Structure Commission of the International Zeolite Association*) identificira svaki zeolitni materijal na temelju njegove strukture s troslovnim mnemoničkim kodom; na primjer, prirodni zeolit klinoptilolit označava se kao HEU [6].

Zeolite karakteriziraju brojna fizikalna i kemijska svojstva, kao što su primjerice: morfologija, veličina čestica, toplinsko širenje, gustoća, tvrdoća, ujednačenost sastava, optička svojstva, boja, dielektrična svojstva, električna vodljivost, termokemija, zeolitna

voda i dr. [7,8]. Među najznačajnijim karakteristikama zeolita su njihove velike vanjske površine negativno nabijene hidratiziranim anorganskim ionima, a koji reagiraju s pozitivnim ionima ili polarnim molekulama iz okolnog medija. Zajedno s vanjskim kapacitetom kationske izmjene, vanjska površina zeolita je presudna karakteristika za procjenu same aktivnosti zeolita. Osim navedenog, adsorpcijska svojstva zeolita uvjetovana su i sposobnošću molekula adsorbata da prodru u šupljine zeolita, ovisno o njihovim dimenzijama i veličinama pora (u rasponu od 0,4 nm do 1,3 nm), a sama adsorpcija može se odvijati i na unutarnjoj i na vanjskoj površini zeolita.

Omjer silicija prema aluminiju, u zeolitu, određuje kapacitet ionske izmjene i privlačnost kationa, koji se nalaze unutar pora i kanala. Osim metalnih kationa i vode, koji se nalaze u šupljinama i porama zeolita, u njih se mogu smjestiti i druge molekule i kationske skupine, kao što su, na primjer, ioni amonijaka i nitrata. Sve navedene „pokretljive“ molekulske skupine vezane su na zeolitnu mrežu različitim razinama afiniteta [9].

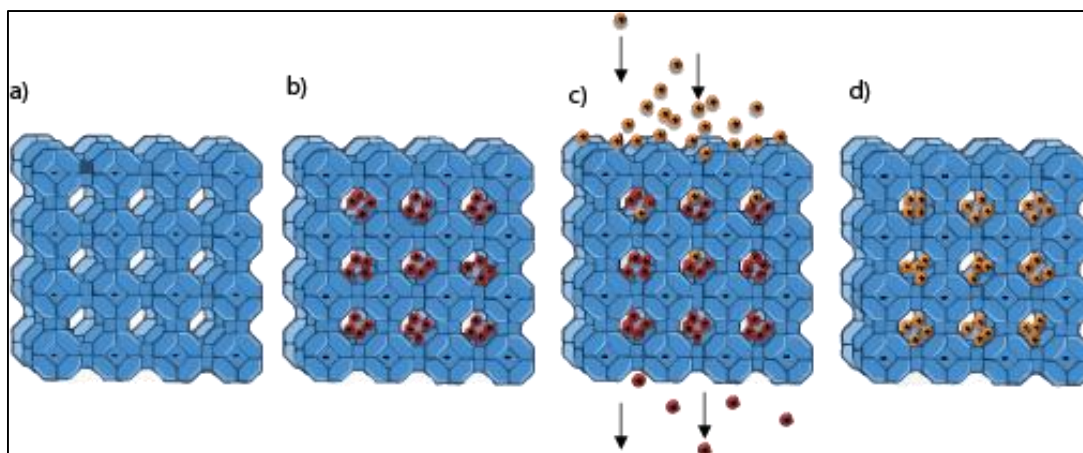
Za određivanje fizikalnih i kemijskih značajki zeolita, ključno je definiranje praznih prostora i međusobno povezanih kanala u dehidriranim kristalima. Razlikujemo tri tipa sustava kanala: jednodimenzionalni sustav, dvodimenzionalni sustav i dva tipa trodimenzionalnih sustava s kanalima koji se presijecaju [5].

Dimenzije otvora pora još su jedan važan kriterij za kategorizaciju zeolita. Prema njima zeolite možemo podijeliti u sljedeće kategorije:

- sustav malih pora (osmeročlani prsteni, promjeri oko 4 Å),
- sustav srednjih pora (deseteročlani prsteni, ~5-6 Å),
- sustav dvostrukih pora (osam- do deseteročlani prsteni, ~7 Å),
- sustav velikih pora (dvanaesteročlani prsteni, ~7 Å) i
- sustav mezopora (dvanaesteročlani prsteni, > 12 Å).

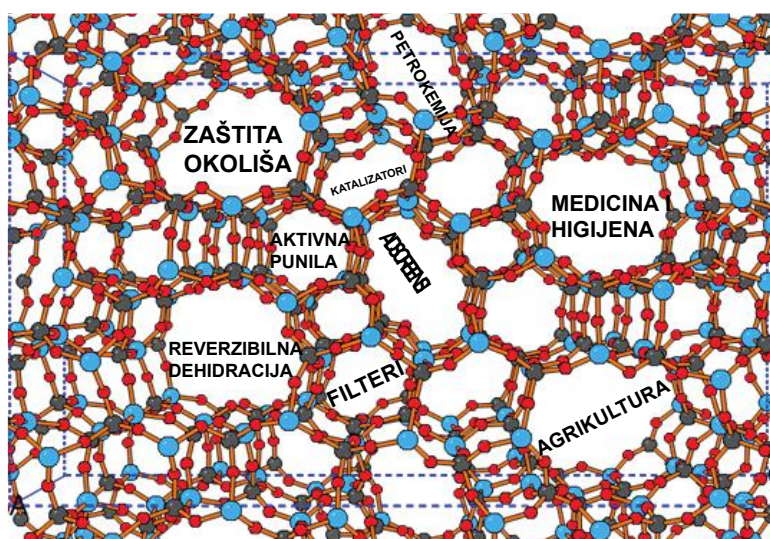
S obzirom na sadržaj silicija, zeoliti se mogu klasificirati kao oni sa visokim količinama silicija, kod kojih je omjer silicija prema aluminiju > 10, zatim onih kod kojih je navedeni omjer između 1,5 i 10 te oni s niskim količinama silicija s omjerom < 1,5.

Visoko porozna struktura zeolita hvata čestice manje od 4 μm . Njihova sposobnost ionske izmjene (slika 3.) omogućuje selektivno hvatanje kationa teških metala poput olova (Pb), bakra (Cu), kadmija (Cd), cinka (Zn), kobalta (Co), kroma (Cr), mangana (Mn) i željeza (Fe) [5].



Slika 3. a) struktura zeolitne rešetke, b) zeolitna rešetka s prikazanim mobilnim ionima, c) i d) prikaz ionske izmjene (prilagođeno s mrežne stranice: <https://chembam.com/online-resources/gcse-resources/cages/>, pristupljeno u studenom 2022.).

Zeoliti se često nazivaju „čarobnim kamenjima“, zbog širokog raspona tehničkih, industrijskih, poljoprivrednih, komercijalnih i biomedicinskih primjena (slika 4).

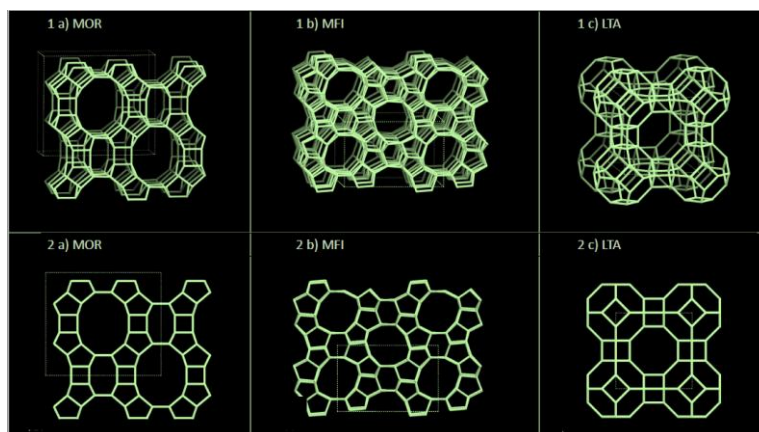


Slika 4. Ilustracija brojnih područja primjene zeolitnih materijala (prilagođeno s mrežne stranice: <https://www.mdpi.com/2073-4352/10/7/622>, pristupljeno u veljači 2023.).

Zeoliti se tako primjerice koriste kao: katalizatori (npr. u petrokemijskoj industriji), molekularna sita za odvajanje i razvrstavanje molekula prema njihovim dimenzijama, adsorbenti (npr. za pročišćavanje vode, tla i zraka, kao i za uklanjanje radioaktivnih kontaminanata, a isto tako i za prikupljanje otpadne topline te sunčeve toplinske energije, kao i za adsorpcijsko hlađenje), deterdženti (npr. za pranje rublja), oplemenjivači tla u agronomiji, dodaci u prehrani životinja, insekticidi i pesticidi u zaštiti bilja, hidroponski (zeoponski) supstrat za uzgoj biljaka u svemirskim misijama, medicinski pripravci za zacjeljivanje posjekotina i rana te antikarcinogeni spojevi [5,10,11].

Kao što je prethodno navedeno, nebrojene su mogućnosti korištenja zeolita u raznim granama industrije, a još uvijek se ekstenzivno istražuju mogućnosti njihove primjene. Stoga ne čudi činjenica da je u Europskom patentnom uredu do 2022. godine prijavljeno više od 113.000 patenata, koji uključuju ili se odnose na zeolite (<https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=zeolites>).

Usprkos stalno rastućem broju novih zeolitnih struktura koje se otkrivaju, broj komercijaliziranih zeolitnih struktura ograničen je na manje od 20. Neki od najčešćih tipova zeolita su: FAU, MFI, BEA, MOR, CHA, FER i LTA (slika 5.) [12].



Slika 5. Najčešće korišteni zeolitni materijali u industriji. U gornjem redu su prikazane 3 D strukture, kako slijedi: 1a) MOR, 1b) MFI i 1c) LTA (npr. zeolit A); a u donjem redu su prikazane pojedinačne ravnine navedenih struktura zeolita: 2a) MOR, 2b) MFI i 2c)

LTA (prilagođeno s mrežne stranice <http://www.iza-structure.org/databases/>, pristupljeno u studenom 2022).

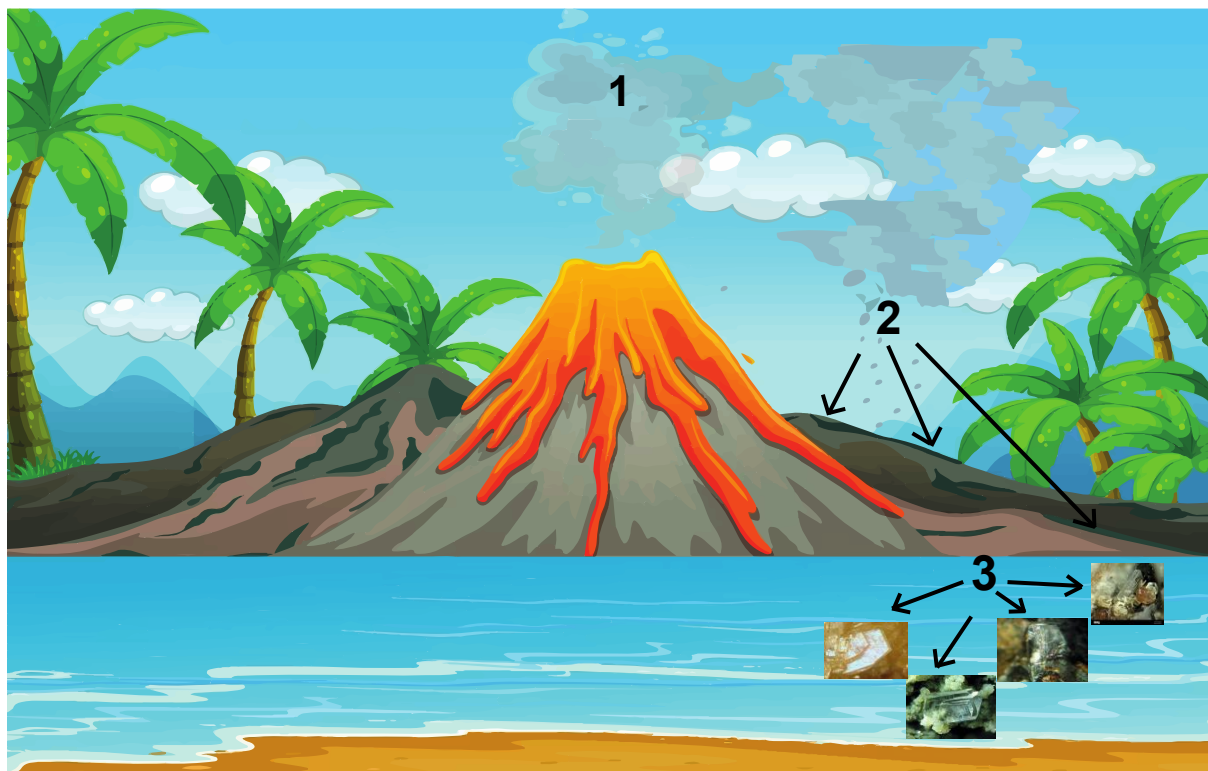
Čak dva stoljeća nakon Cronstedtovog otkrića, zeoliti nisu bili predmet interesa znanstvenicima, jer se smatralo da je riječ o rijetkim mineralima primarno nađenima u bazaltnim stijenama sa značajnim udjelom nečistoća. Tada nisu postojale tehnologije sintetiziranja umjetnih zeolita, kao niti procesi pročišćavanja i smatralo se da bi otapanje zeolita rezultiralo nepovratnim gubitkom njihove kristalnosti. Međutim, godine 1857. Damour je dokazao suprotno. Ubrzo nakon toga, točnije 1862. godine, Henry Etienne Sainte-Claire Deville je sintetizirao prvi umjetni zeolit, levinit. Nijemac Robert Gans je potom sintetizirao permutit, koji je i ušao u komercijalnu uporabu za omekšavanje vode 1905. godine, za što se koristi i danas. Nedugo nakon toga, točnije 1925., Weigel i Steinhof su pokazali da zeolit može služiti i kao molekularno sito na primjeru kabazita. Nakon uklanjanja vode iz pora dehidriranog kabazita molekule plina se mogu razdvojiti na temelju njihove veličine [1].

Danas se u industriji paralelno koriste i prirodni i umjetno sintetizirani zeoliti. Selektivnost zeolita za određeni kation ovisi o njegovoj jakosti anionskog polja (ili gustoći okvirnog naboja), a ova svojstva su određena omjerom silicija i aluminija u zeolitu.

Prirodni zeoliti su karakterizirani srednje visokim omjerom silicija prema aluminiju te se koriste za posebne svrhe i nadopunjuju komercijalne tipove zeolita, poput zeolita A, LTA, X i FAU, koji su više aluminijski. Drugim riječima, prirodni i sintetski zeoliti imaju različita područja primjene kao kationski izmjenjivači.

1.2 Prirodni zeoliti

Prirodni zeoliti potječu od vulkanskih stijena i slojeva pepela, koji reagiraju s alkalijskim elementima prisutnima u podzemnim vodama (slika 6.).



Slika 6. Shema procesa nastanka prirodnih zeolita: 1) vulkanske erupcije oslobađaju pepeo u zrak, 2) vulkanski pepeo pada na tlo i stvara pepelne taloge, 3) pepelni talozi dolaze u kontakt sa slanom vodom, pri čemu nastaju kristali prirodnih zeolita (prilagođeno s mrežne stranice: <https://www.freepik.com/free-photos-vectors/volcanic>, pristupljeno u veljači 2023.).

U prirodi se zeoliti pojavljuju kao submikroskopski ili mikroskopski kristali, koji su sastavni dijelovi sedimentnih stijena različite litologije, starosti i okoliša taloženja. Poznato je dvadesetak vrsta zeolita koji potječu od sedimentnih stijena, a među njima su najčešći: analcim, habazit, klinoptilolit, erionit, heulandit, laumontit, mordenit i filipsit.

Zeoliti najčešće nastaju od vulkanskog stakla, putem složenog višefaznog procesa otapanja i taloženja gelastog materijala, kao što su opisali Noh i Boles 1989. godine

[13]. Formiranje zeolitnih minerala ovisi o kemijskom sastavu matične vulkanske stijene - primarno o udjelu silicija, a također značajno ovisi i o kemijskom sastavu vode (pH, salinitet, otopljeni ioni). Veći sadržaj soli u vodi pogoduje pretvaranju vulkanskog stakla u zeolit.

Prirodni zeolit, klinoptilolit, može se naći u šest tipičnih vrsta nalazišta, kao što su opisali Eyde i Holmes:

- Zatvorene i slane jezerske vode, koje reagiraju s vulkanskim materijalom,
- Otvoreni sustav, slana i slatka jezerska voda s ostacima vulkanskog pepela, koja reagira s morskom vodom,
- Vulkanski pepeo nakupljen u obalama i dubokim morskim sedimentima, koji reagira s morskom vodom (najviše rezerve homogenih minerala do 95%)
- Metamorfoza vulkanskog pepela i debelih slojeva sedimenata pri niskim temperaturama,
- Razgradnja Al-Si materijala djelovanjem hidrotermalnih rezervi i toplih izvora,
- Nedostatak dokaza da izvorni vulkanski ostaci reagiraju s jezerskom ili morskom vodom [5].

Jednom formirani zeoliti kontinuirano mijenjanju svoju strukturu, redovito prelazeći iz jednog oblika u drugi. Ove promjene su uglavnom posljedica fizikalno-kemijskih okolišnih čimbenika ili su jednostavno posljedica prelaska manje stabilne u više stabilnu fazu. I zeoliti i mineralne gline nastaju iz istih alumino-silikatnih materijala, no konačni produkt reakcije ovisi o aktivnosti vodikovih, alkalijskih, silikatnih i aluminatnih iona.

Najvažniji uvjet za formiranje zeolita je visoki omjer alkalijskih i zemnoalkalijskih kationa (Na^+ , K^+ i Ca^{2+}), prema vodikovom ionu (H^+). Naime, zeoliti se primarno formiraju u alkalnim okolišima (zbog povećane topljivosti silikata i aluminijevih iona pri visokim pH vrijednostima) pa se najveće koncentracije relativno čistih zeolita nalaze u filtriranim naslagama staklene tefre, u slanim i visoko alkalnim jezerima ($\text{pH} = 9,5-10$).

Temperatura uvelike utječe na brzinu nastanka zeolita te određuje vrstu formiranog zeolita. Pri višim temperaturama su stabilniji manje hidratizirani zeoliti, kao što su: laumontit, analcim i vairakit, u usporedbi s više hidratiziranim zeolitima, kao što su: klinoptilolit, kabazit i stilbit. Budući da zeolite karakterizira otvorena struktura niske specifične težine, jako su osjetljivi na promjenu tlaka. Visoki tlak pogoduje zeolitima veće specifične težine, koji su manje hidratizirani. Vertikalni gradijent tlak-temperatura, koji se često nalazi u stupcu stijene, rezultira vertikalnom zonalnošću tipova zeolita - od najviše hidratiziranih na površini, do najmanje hidratiziranih u dubljim slojevima stijene.

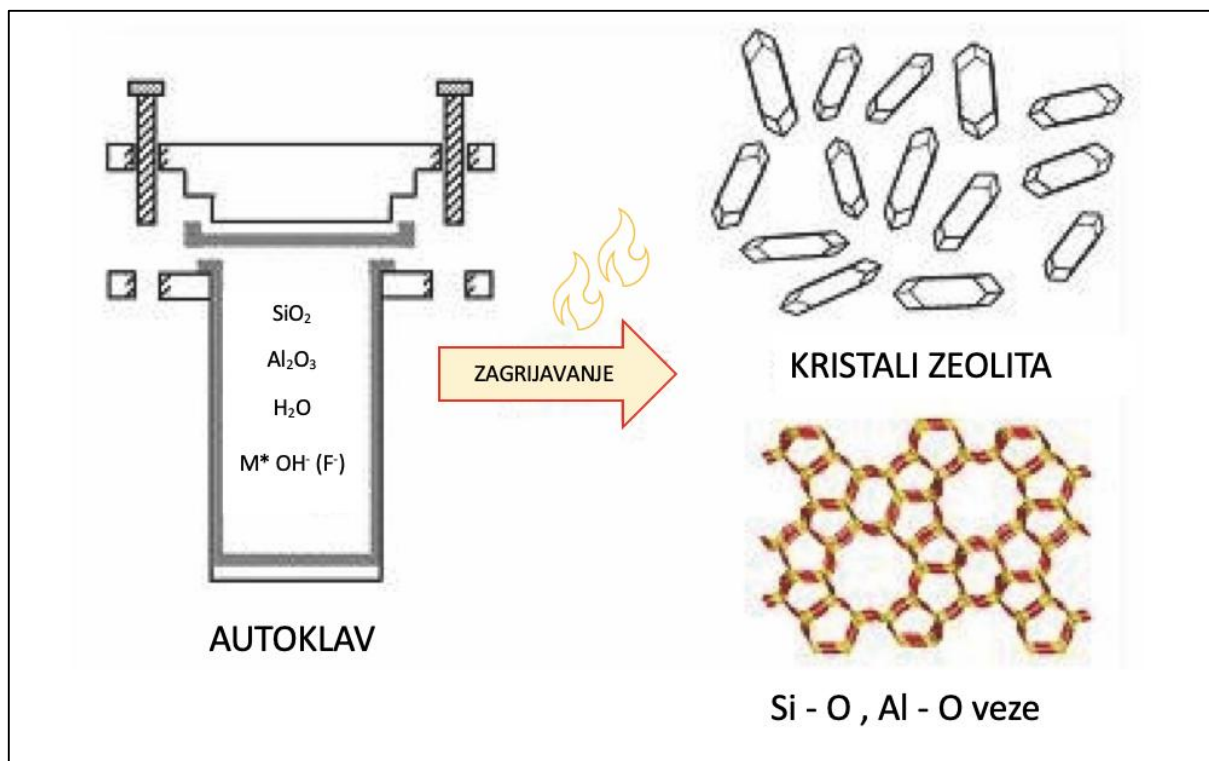
Brzina nastajanja zeolita je najvećim djelom uvjetovana prirodom prekursora. Zeoliti se brže stvaraju iz stakla nego iz većine kristalnih materijala, pri čemu brzina nastanka opada s povećanjem udjela silikata u staklu. Stoga su stakla bogata alkalijskim metalima, a siromašna silikatima najčešći prirodni izvor zeolita [14].

Visoki udio Si u prirodnim zeolitima, uvjetuje njihov izraženi afinitet prema teškim metalima [15]. Naime, prirodni zeoliti pokazuju iznimnu sposobnost eliminacije teških metala iz onečišćenog okoliša [5,16] i organizama [9]. Osim toga, visoko su inertni i sigurni za ljudsku uporabu [17]. Nadalje, i pretklinička i klinička ispitivanja ukazuju na veliki medicinski potencijal ovih materijala u liječenju raznih bolesti [17-19]. Stoga ne čudi činjenica, da su se zeoliti upotrebljavali u medicinske svrhe već prije nekoliko tisuća godina. Iako se danas generalno smatraju sigurnima za ljudsku upotrebu te se često reklamiraju kao zdravi dodaci prehrani, valja istaknuti da su i dalje potrebna dodatna istraživanja u tom pravcu. Primjerice, zeolit erionit ima kancerogeno djelovanje zbog svoje vlaknaste prirode i visokog sadržaja željeza [5].

Unatoč činjenici da su nalazišta mineralnih zeolita u prirodi široko rasprostranjena i bogata, njihova je uporaba za industrijsku primjenu uglavnom ograničena na sredstva za poboljšanje tla ili sredstva za oslobađanje hranjivih tvari u hortikulturi. Za većinu drugih primjena, poželjna je uporaba sintetičkih zeolita, budući da isti nisu opterećeni onečišćenjima, koja mogu imati štetne učinke na katalitičku izvedbu materijala.

1.3 Sintetizirani zeoliti

Formiranje sintetskih zeolita zahtijeva u većini slučajeva korištenje hidrotermalnih uvjeta. Sinteza se tipično odvija u autoklavu, koji sadrži amorfni gel sastavljen od reaktanata silicijevog dioksida, glinice i izvora kationa (npr. Na^+ i K^+), u visoko bazičnom vodenom mediju. Vodeni sloj se zatim zagrijava iznad vrelišta vode (hidrotermalni uvjeti) i nakon određenog indukcijskog perioda prvobitno amorfni aluminosilikatni gel se transformira u kristalni produkt (slika 7.). Kristalizacija ili zeolitizacija definirana je kinetičkom kontrolom, jer je kidanje veza u prekursorima aluminiyevog i silicijevog oksida i stvaranje Si-O-Al veza entalpijski slično. Zeoliti su metastabilne vrste koje se pretvaraju u gušću i stabilniju fazu, kao što je kristobalit ili kvarc tijekom vremena. Pokazalo se da su zeoliti, u usporedbi s kvarcom, destabilizirani za samo 6 -14 kJ/mol i vrlo slični amorfnom siliciju (0-7 kJ/mol). Kao posljedica toga, sinteza zeolita je vrlo osjetljiva na promjene u sastavu gela, temperaturi, reakcijskom vremenu i drugim čimbenicima. Stoga je precizna kontrola ovih parametara najvažnija za dobivanje zeolita visoke čistoće [12].



Slika 7. Shema sinteze zeolita u autoklavu u hidrotermalnim uvjetima (prilagođeno prema Sumaria i sur. [20]).

Sintetski zeoliti, sa smanjenim veličinama pora, imaju širok raspon specijaliziranih primjena. Koriste se u deterdžentima (npr. za omekšavanje vode), služe kao veziva u stočnoj hrani, sredstva protiv zgrušavanja krvi te kao upijači mirisa u širokom spektru proizvoda za osobnu njegu. Najčešća uporaba sintetskih zeolita je u deterdžentima za pranje rublja. Zeoliti se koriste u koncentracijama do 40% u formulacijama običnih i kompaktnih praškova za rublje, kao i u tabletama za pranje rublja, a u koncentracijama do 60% u prašcima za ručno pranje rublja.

S obzirom na njihovu prethodno istaknutu široku uporabu, do izlaganja zeolitima može doći oralnim, dermalnim i respiratornim putem. Stoga je vrlo važno procijeniti sigurnost izloženosti zeolitima i to primarno zbog činjenice što potencijalna izloženost radnika i potrošača može biti kronična i opsežna. Zeoliti su higroskopni i često je teško napraviti precizna mjerenja njihovih ključnih kemijskih karakteristika. Uslijed izmjene vlastitih Na, Ca i Mg iona s drugim kationima, uključujući i teške metale, kao i elemente u tragovima, bioraspoloživost nekih važnih elemenata, kao što su Mg, Zn i Cu, može biti pod utjecajem zeolita.

Oralna izloženost se pojavljuje prilikom slučajnog unošenja ili gutanjem prašine čestica, koje su prevelike da bi ušle dublje u respiratorni trakt. Ljudi također mogu biti izloženi neizravno putem vode za piće.

Zbog njihove slabe topljivosti u vodi i ionskog karaktera, ne očekuje se da će zeoliti prijeći barijeru intaktne kože (IUPAC 2001). Stoga se pretpostavlja da je dermalni unos zanemariv, sve dok je koža neoštećena. U slučaju oštećene kože, može doći do unosa zeolita u vrlo ograničenim količinama, budući da slaba topljivost u vodenim sustavima i ionska priroda spojeva sprječava bilo kakvo značajno preuzimanje molekula tjelesnih tekućina. Veličina čestica zeolita je normalno između 1 i 10 μm te se često spontano nakupljaju u veće strukture, koje se mogu zarobiti u gornjim dišnim putovima ili progutati. Čestice manje od 10 μm mogu prodrijeti duboko u pluća i doći do alveola. Tu se mogu nakupljati godinama, budući da alveolarne membrane nemaju cilije, koje bi čestice pomicale iz pluća prema ždrijelu (IUPAC2001); a eventualno ih mogu preuzeti i makrofagi [21].

Sintetski zeoliti obično se dobivaju kristalizacijom gelova koji sadrže vodu, silicijev dioksid i glinice u hidrotermalnim uvjetima, pri bazičnom pH, temperaturnom rasponu 60–200 °C i autogenom tlaku. Sintezni gel obično sadrži bazične agense, alkalijske katione i organske agense. Omjer Si/Al ključni je parametar sinteze, s obzirom da može determinirati vrstu strukture zeolita koja se formira, njegovu kristalnost, kao i kinetiku procesa kristalizacije. Općenito, omjer Si/Al u zeolitu je niži nego u gelu. Zbog niske topivosti silicijevog dioksida i aluminijskog oksida u vodi, sredstva za mineralizaciju, poput natrijeve i kalijeve lužine, moraju se dodati u gel, kako bi se prekursori oslobodili (otopili) i kako bi se pospješilo stvaranje Si–O–Si i Si–O–Al veza, kroz reakcije kondenzacije. Teški uvjeti kristalizacije, kao što su visoka temperatura i dugo reakcijsko vrijeme, pogoduju stvaranju termodinamički stabilnijih faza. Snažan utjecaj na kristalizaciju zeolita ima i miješanje, koje pospješuje stvaranje manjih kristala s užom raspodjelom njihovih veličina. Prisutnost vode neophodna je za kristalizaciju zeolita, jer omogućuje otapanje prekursora Si i Al te je duboko uključen u kemiju gela. Međutim, višak vode može imati i neželjene učinke, kao što je smanjenje prinosa zeolita i stvaranje tokova vodenog otpada. U skladu s tim, razvijen je niz metoda za minimiziranje sadržaja vode tijekom kristalizacije zeolita. To su, primjerice, pretvorba suhog gela, transport u parnoj fazi i sinteza uz pomoć pare. Struktura zeolita formira se 3D rasporedom TO_4 tetraedara (pri čemu T predstavlja atome Si i Al), povezanih kisikovim mostovima, pri čemu se stvara otvoreni okvir s porama i šupljinama dostupnim malim molekulama. Uzimajući u obzir sve moguće rasporede jedinica TO_4 , broj mogućih zeolitskih struktura je izuzetno velik. Međutim, u praksi se ipak sintetizira relativno mali broj struktura.

Međunarodna udruga za zeolite (http://rcsr.fos.su.se/IZA-SC/ftc_table.php) navela je 247 poznatih struktura, predstavljenih okvirnim kodovima od tri slova. Veličine pora unutar zeolitnih struktura uglavnom su ispod 1 nm i izravno su povezane s brojem T atoma prisutnih u prstenima pora.

Klasični aluminosilikatni zeoliti poznati su po svojim kiselim svojstvima i svojstvima kationske izmjene. Navedena svojstva proizlaze iz dodatnog negativnog naboja okvira povezanog s Al tetraedrima, koji treba biti uravnotežen vanjskim protukationima. Protukationi se mogu izmijeniti dovođenjem zeolita u kontakt s otopinom drugog kationa, dok se ne postigne ravnoteža između zeolita i tekuće faze. Tipično, zeoliti se

sintetiziraju u obliku Na ili K koji se može transformirati u protonski oblik ionskom izmjenom s amonijevim solima, nakon čega slijedi kalcinacija da se ukloni amonijak. U načelu, kiselost u zeolitima proizlazi iz prisutnosti Brønstedovih kiselih mjesta izravno povezanih s atomima Al u pozicijama tetraedarskog okvira. Međutim, zeoliti također mogu sadržavati značajne količine Lewisovih kiselina, nastalih dehidracijom Brønstedovih mjesta ili povezanih s vrstama Al izvan okvira, koje se mogu formirati tijekom sinteze ili kalcinacije. Zeoliti s visokim sadržajem silicijevog dioksida uglavnom pokazuju kiselost Brønstedovog tipa. I Brønstedova i Lewisova kiselina mjesta prisutna su u značajnim koncentracijama u zeolitima s niskim omjerom Si/Al. Značajno je da su, u usporedbi s amorfnim aluminosilikatima, kiselinska mjesta u zeolitima jača i jednoličnija, što je izravna posljedica kristalne prirode zeolita.

Iako su dosta manje razvijeni od kiselih, zeoliti također mogu biti bazični. To su, u prvom redu zeoliti koji su ionski izmijenjeni s alkalijskim kationima, kao i zeoliti s okludiranim bazičnim metalima i metalnim oksidima, koji se koriste u organskoj industriji. Primjerice, bazični X zeoliti se koriste za alkilaciju toluena s metanolom, ciklo-adiciju ugljičnog dioksida na etilen oksid, izomerizaciju 1-butena i alkilaciju toluena s etilenom.

Veličina mikropora zeolita je na razini molekularnih dimenzija malih organskih molekula. Kao rezultat toga, oni pokazuju takozvanu selektivnost oblika i učinke molekularnog sita. Zeolit može razlikovati molekule koje imaju samo malu varijaciju u veličini ili obliku, tako da veća molekula ne može prodrijeti kroz mikropore zeolita ili vrlo sporo difundira kroz kanale, dok manja difundira znatno brže. Kao rezultat toga, uočene su velike razlike u preuzimanju i reaktivnosti spojeva, kao što su ksileni ili n- u odnosu na izo-alkane. Zeoliti se također koriste kao nosači za širok raspon aktivnih faza prilikom modifikacije i nadopune njihovih svojstva. Te aktivne faze uključuju metale, metalne okside, metalne soli i metalne komplekse. Navedeni procesi generiraju materijale s višenamjenskim svojstvima i primjenom u raznim sektorima, kao što su: rafiniranje nafte, petrokemija, proizvodnja finih kemikalija, uklanjanje otpadnih tvari u plinovitim i tekućim tokovima, proizvodnja biogoriva i sl. [22].

1.3.1 Klinoptilolit

Klinoptilolit je najčešći prirodni zeolit. Ima opću formulu tipa $(\text{Na}, \text{K}, \text{Ca})_{2-3}\text{Al}_3(\text{Al}, \text{Si})_2\text{Si}_{13}\text{O}_{36} \times 12\text{H}_2\text{O}$, a omjer silicija prema aluminiju, u njegovoj strukturi, može varirati od 4,0 do 5,3 [23]. Kao što je vidljivo iz opće formule, pore ovog zeolita bogate su molekulama vode i jednovalentnim (Na^+ i K^+) ili dvovalentnim alkalnim ionima (Ca^{2+} i Ba^{2+}), koji se lako mogu izmijeniti s drugim polarnim molekulama i kationima iz okolnog medija [19]. Prije uporabe, obično se aktivira mljevenjem u fini prah, pri čemu se njegova površina i aktivnost znatno povećavaju [24]. Kao takav, klinoptilolit je već certificiran za kliničku primjenu [9].

Klinoptilolitne stijene su rasprostranjene diljem svijeta, s poznatim nalazištima u Europi (Mađarska, Italija, Rumunjska, Slovačka, Slovenija, Turska, Ukrajina, Rusija i dr.), Aziji (Gruzija, Azerbajdžan, Kina, Iran, Japan, Koreja), Africi (Južna Afrika), Australiji i Novom Zelandu, kao i u mnogim zemljama Amerike (Argentina, Kuba, Meksiko i SAD). Udio klinoptilolita u matičnim stijenama obično prelazi 50%, a često doseže i preko 80% [25].

Klinoptilolitna stijena se formira u obliku pločastih monoklinskih tektosilikatnih kristala, s Mohsovom tvrdoćom od 3,5 do 4 i specifičnom težinom od 2,1 do 2,2 (<http://webmineral.com/data/Clinoptilolite-K.shtml#.Y0gW0HZByUk>). Njegov naziv osmislio je Shaller, 1923. godine, prilikom predstavljanja alkalijskim elementima i silicijem bogatih članova zeolita iz skupine heulandita. Kasnije je Mumpton, 1960. godine, dao novu definiciju klinoptilolita na temelju razlike u toplinskom ponašanju između heulandita i klinoptilolita, pokazavši da zagrijavanjem do $\sim 450^\circ\text{C}$ dolazi do razaranja strukture heulandita, dok struktura klinoptilolita ostaje postojana do oko $\sim 700^\circ\text{C}$ [26]. Iako klinoptilolit ima visoku strukturnu sličnost sa zeolitnim heulanditom (izostrukturni su), od heulandita se razlikuje po većem Si/Al omjeru u korist Si, prilikom čega vrijedi da je pri omjerima većim od 4,0 i $(\text{Na} + \text{K}) > (\text{Ca} + \text{Sr} + \text{Ba})$, strukturna stabilnost zeolita veća, a posljedično raste i njegova iskoristivost za *in vivo* primjene [9].

Pozitivni učinci klinoptilolita na zdravlje ljudi se ogledaju kroz nekoliko različitih mehanizama, koji uključuju izravne pozitivne učinke na morfologiju, funkciju i mikrobnu floru probavnog trakta, dostavu metabolički važnih iona, poboljšanje stanja uhranjenosti, jačanje imuniteta te detoksikaciju hrane i pitke vode [10]. Klinoptilolit posjeduje izvrsna detoksikacijska, antioksidativna i protuupalna svojstva. Štoviše, ovaj prirodni zeolit vrlo je inertan i ne reagira kemijski s hranom, tjelesnim tekućinama ili njihovim metabolitima te je pogodan za oralnu primjenu u razne medicinske svrhe [9], a toksikološke studije na glodavcima dokazale su sigurnost ovoga medicinskog proizvoda i nakon dugotrajne oralne primjene [17]. Klinoptilolit se, također, pokazao kao pogodan mikroporozni nosač za pH-kontroliranu oralnu isporuku aspirina, tj. nesteroidnog protuupalnog lijeka s antikoagulirajućim djelovanjem, u svrhu supresije želučane iritacije uslijed inhibicije želučanog enzima ciklooksigenaze I [27].

Dodavanje klinoptilolita u prehranu peradi, poboljšava se morfologija crijeva (npr. inducira rast crijevnih resica) i sastav fiziološke mikrobne flore u crijevima, smanjuje oštećenje crijeвне sluznice i upalni odgovor na bakterijski lipopolisaharid, povećava antioksidativni kapacitet organizma, te povećava sadržaj omega-3 polinezasićenih masnih kiselina u tijelu i u jajima peradi [28-30]. Zdravlje domaćih životinja (peradi, goveda) također se može značajno poboljšati uklanjanjem nitrata i mikotoksina (aflatoksina, ohratoksina) iz njihove hrane i vode za piće, uporabom klinoptilolita [5], a dodatni medicinski benefit pruža Zn, koji je prirodno sadržan u strukturi zeolita, a štiti perad od infekcije bakterijom *Salmonella pullorum* [31]. Međutim, prekomjerno dodavanje klinoptilolita hrani za perad može dovesti do upalnog odgovora u crijevima i oštećenja crijeвне barijere. Ova upalna reakcija je posredovana povećanjem CD4⁺ i CD25⁺ T i B limfocita i višim serumskim koncentracijama interleukina IL-2 i IL-1 [32].

Klinoptilolit je pokazao pozitivne učinke na hepatocite, nakon djelomične hepatektomije kod štakora, svojim antioksidativnim djelovanjem. Nakon oralne primjene, klinoptilolit je smanjio razinu malondialdehida, markera oksidativnog stresa u jetri, uz istovremeno povećanje aktivnosti superoksid dismutaze i razine glutaciona, odnosno antioksidativnih molekula [33]. Ovo antioksidativno djelovanje zeolita pokazuje medicinski benefit i kod antitumorske terapije, gdje potiče značajno smanjenje proizvodnje upalnih citokina i apoptoze hepatocita nakon terapije doksorubicinom [34]. Osim navedenog, pokazano je da nanočestice klinoptilolita blokiraju rast nekoliko

staničnih linija raka te se mogu koristiti kao adjuvans u terapiji protiv raka [35]. Kod životinja s tumorom (miševa i pasa), liječenih doksorubicinom, klinoptilolit je smanjio peroksidaciju lipida i pojačao učinak doksorubicina, što se očitovalo snažnim smanjenjem broja plućnih metastaza [36]. Pozitivni učinci zeolita na probavni trakt, uočeni u domaćih životinja, također se mogu projicirati u humanu medicinu. Njegova sposobnost adsorpcije i uklanjanja štetnih tvari, poput teških metala, amonijaka ili drugih malih molekula u gastrointestinalnom traktu ljudi, čini ga izvrsnim sredstvom za detoksikaciju [19].

Lijek na bazi klinoptilolita, Absorbatox™ 2.4D, ublažava kliničke simptome povezane s endoskopski negativnom gastroezofagealnom refluksnom bolešću i nesteroidnim protuupalnim lijekovima. Ovaj gastroprotektivni učinak klinoptilolita vjerojatno je posljedica njegovog vezanja na ione vodika i biološki aktivne amine i nitrata [37].

Klinoptilolit se također pokazao učinkovitim i sigurnim antacidom za pacijente, koji boluju od ulkusa [17,23] te snažnim antioksidansom za onkološke pacijente i dijabetičare [38,39]. Oralna primjena klinoptilolita može poboljšati profil lipida u osoba s dislipidemijom [40]. Aktivirani oblik zeolita potencirao je izgradnju koštanog tkiva uz povećanje mineralne gustoće, smanjenu bol te je utjecao na poboljšanje kvalitete života pacijenata, koji boluju od osteoporoze [41]. Štoviše, ovaj oblik zeolita smanjuje učestalost kemoterapijom izazvane periferne neuropatije te hematološke toksičnosti u onkoloških bolesnika [42].

Prije nego što se uporabi u medicinske svrhe, klinoptilolit je potrebno prethodno obraditi, kako bi se poboljšala njegova fizikalno-kemijska svojstva, poput apsorpcijskih karakteristika ili kapaciteta ionske izmjene ili površine samog zeolita. Jedan od često korištenih načina obrade je tribomehanička obrada, koja razbija kristalnu strukturu zeolita na male komadiće, uzrokujući sudare njegovih čestica te pridonoseći povećanju površinskog naboja i kationske izmjene u pojedinačnim česticama. Posljedično, i aktivirani klinoptilolit (TMAZ) i dvostruko aktivirani klinoptilolit (PMA) pokazuju poboljšana detoksikacijska svojstva u pretkliničkim i kliničkim modelima, u usporedbi s izvornim prirodnim zeolitom [9,19].

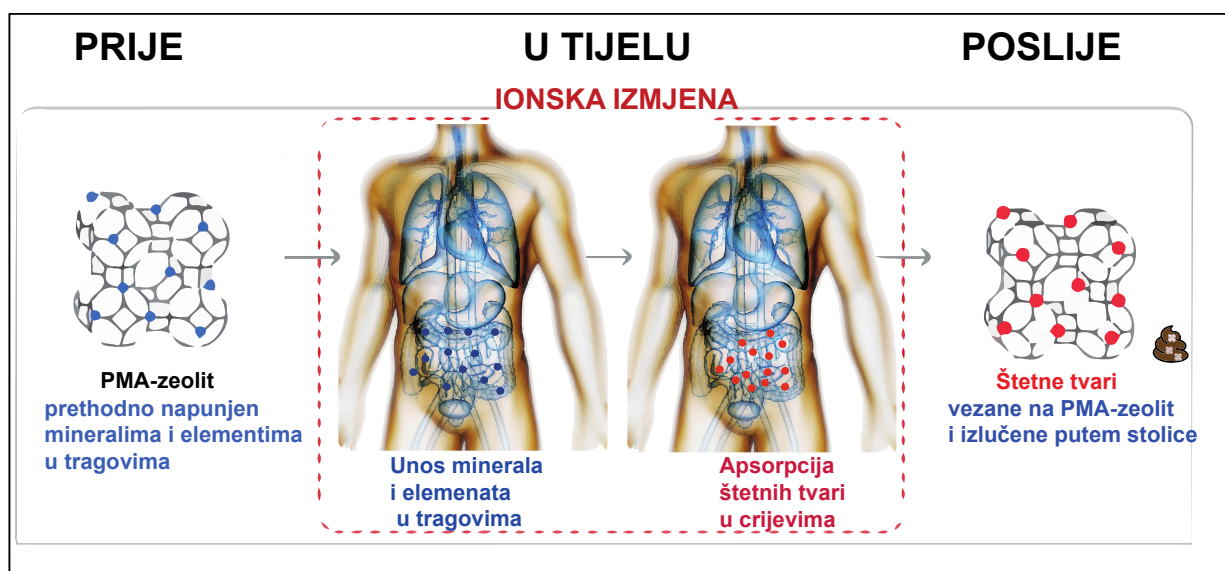
Prethodne studije su opsežno pokazale uvjerljiv učinak klinoptilolita na mnoštvo medicinskih poremećaja, bez toksičnih nuspojava [17]. Homeostaza mineralnih makro/mikroelemenata od velike je biološke važnosti, jer uspostavlja njihovu koncentracijsku ravnotežu u različitim dijelovima tijela. I višak i manjak staničnih razina metalnih iona jednako su štetni, jer oba mogu dovesti do povećanog oksidativnog stresa i narušene stanične signalizacije [43]. Mehanizmi djelovanja klinoptilolita na obnovu homeostaze i povećanje antioksidativnog kapaciteta nisu u potpunosti razjašnjeni. Jednim dijelom, mogu se pripisati općim detoksikacijskim učincima, koji se javljaju u crijevima, otpuštanju otopljenog Si iz crijeva u cirkulaciju, kao i imunomodulatornim učincima preko Peyerovih zakrpi ili čak s otpuštanjem fiziološki relevantnih kationa iz okvira klinoptilolita, tijekom procesa ionske izmjene, npr. Ca, Mn, Zn i Mg, koji su tada lako dostupni antioksidativnom mehanizmu [9].

Prvu sveobuhvatnu akutnu, subkroničnu i kroničnu toksikološku procjenu klinoptilolitnog materijala *in vivo* izveli su Pavelić i sur. 2001. godine [35]. U navedenoj studiji dokazali su da visoke doze tribomehanički mikroniziranog klinoptilolita nisu toksične te ne uzrokuju smrt miševa i štakora. U navedenom ispitivanju korištene su i do 25 puta veće doze od predviđenih potencijalnih doza izloženosti ljudi. Zaključno, klinoptilolitni materijali ispitani u znanstvenoj literaturi pokazali su se općenito sigurnima za *in vivo* primjenu. No, valja imati na umu da specifični kemijski sastav klinoptilolita ovisi o njegovom geografskom porijeklu, a posljedično utječe na njegove fizikalne i kemijske karakteristike te biološku aktivnost. Stoga, navedene pozitivne biološke učinke klinoptilolita treba uzeti s dozom opreza i sagledati ih kroz prizmu specifičnih proizvoda i pripravaka, koji se koriste za određenu primjenu, što bi trebalo integrirati u buduća istraživanja, kao što su predložili i drugi autori [44].

1.3.2 PMA - zeolit

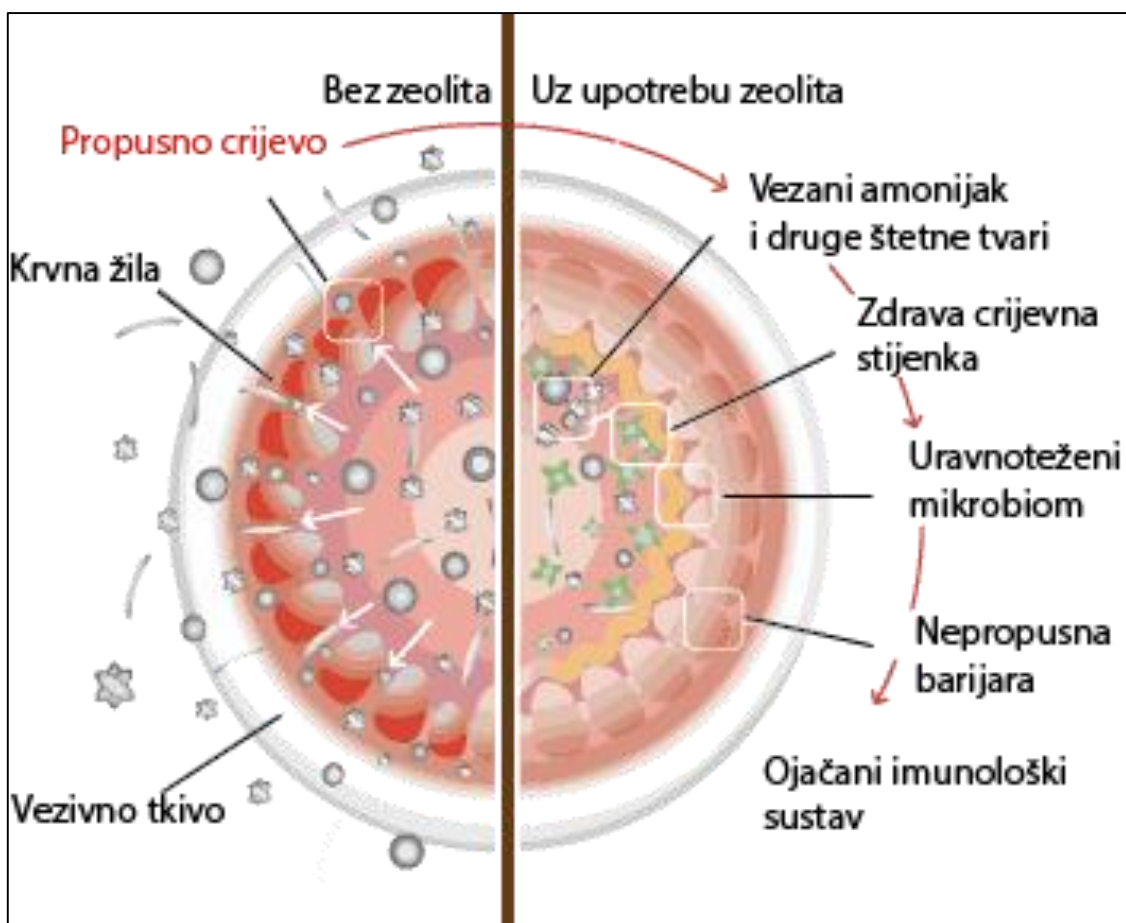
Zeolit-klinoptilolit se prije medicinske primjene obrađuje specifičnim procesima mljevenja. Jedan od najčešće korištenih procesa je tribomehaničko mljevenje. Sam termin tribomehanika, odnosi se na granu fizike, koja se bavi proučavanjem pojava, koje se javljaju tijekom mljevenja u dinamičkim uvjetima. Prvi stroj za tribomehaničku mikronizaciju i aktivaciju zeolita (TMA) patentiran je u Ženevi 1998. godine. Mikronizirajući mlinovi imaju dvije suprotno rotirajuće paralelne lopatice, koje s potiskom od 2500 km/h i posebnom aerodinamikom stvaraju dva suprotno rotirajuća strujanja zraka, u kojima se čestice zeolitnog praha samo-sudaraju učestalošću od 3-4000 sudara/s. Sam postupak obrade TMA ne uzrokuje promjene u kemijskom sastavu prirodnog zeolita, ali u značajnom omjeru mijenja fizikalne karakteristike tretiranog materijala. Spomenuti proces značajno pridonosi smanjenju veličina čestica, povećanju aktivne površine, kao i povećanju kapaciteta iona te povećanju elektrostatskog naboja. Konkretno, TMA smanjuje veličinu čestica ispod 10 μm , što se može postići ubrzavanjem čestica u različitim vrstama mlinova. U tzv. mlaznim mlinovima mikronizacija se postiže većom udarnom brzinom između 300-500 m/s u brzjoj struji plina. Tijekom mikronizacije dolazi do deformacije materijala, konkretno do oštećenja kristala na površini i do njihovog djelomičnog prelaza iz kristalnog u amorfni oblik. Posljedično dolazi do pojave novih površina, uslijed kidanja kemijskih veza i kretanja čestica. To nadalje rezultira fizikalnim i energetskim promjenama svojstava materijala [45-47].

Istraživanja učinka tribomehaničke aktivacije zeolita na biološke sustave dokazala su da ove fizikalne promjene zeolita pogoduju pozitivnim učincima kod različitih patoloških stanja organizama. Potencijalna prednost mikroniziranih prirodnih zeolita u području medicine primarno proizlazi od povećanja aktivne površine i bioekvivalencije [24]. Tribomehanička mikronizacija je specifična mikronizacija, koja je prvi put korištena za jednokratnu aktivaciju klinoptilolita, a dalje je razvijena tehnologija Panaceo mikroaktivacija, kojom se dobiva Panaceo mikronizirani aktivirani zeolit (PMA-zeolit). Ovaj aktivirani zeolit podvrgnut je vrlo snažnom ionskom pobuđenju te ga karakterizira povećani površinski naboj i sposobnost detoksikacije radikala, amonijaka, teških metala i sl. (slika 8).



Slika 8. Shematski prikaz fizikalnog mehanizma djelovanja PMA-zeolita (prilagođeni prikaz preuzet s mrežne stranice: www.panaceo.com, pristupljeno u studenom 2022.).

Panaceo mikronizirani aktivirani zeolit (PMA-zeolit) ispitan je u pretkliničkim i kliničkim ispitivanjima te je registriran kao medicinski proizvod prema europskoj direktivi 93/42/EEC [41]. Štoviše, danas se PMA-zeolit propisuje za apsorpciju/keliranje i uklanjanje štetnih i otrovnih tvari iz gastrointestinalnog trakta (npr. teških metala, nitrozamina, amonijaka, mikotoksina, kationa, radioaktivnih materijala, pesticida i sl.), smanjujući njihovu apsorpciju u tijelu. Osim toga, kliničke studije pokazuju da jača crijevnu stjenku te pozitivno utječe na sastav mikroorganizama u probavnom traktu (crijevni mikrobiom). Konačno, može djelovati i kao antioksidans, hvatanjem slobodnih radikala i smanjenjem stvaranja reaktivnih kisikovih vrsta (slika 9).



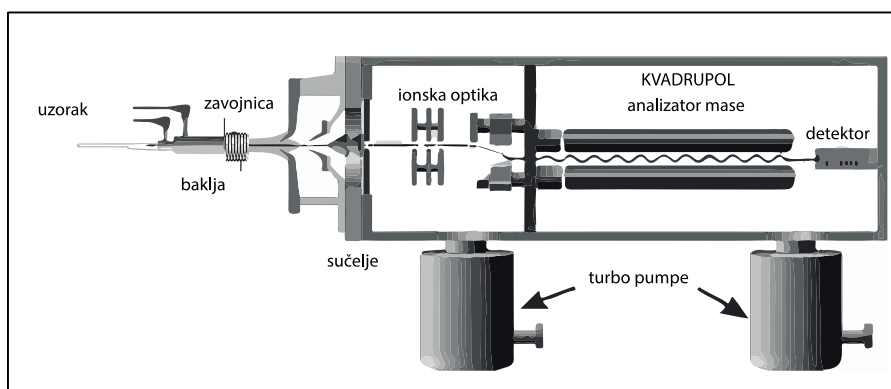
Slika 9. Shema utjecaja PMA-zeolita na gastrointestinalni trakt (prilagođeni prikaz preuzet s mrežne stranice: www.panaceo.com, pristupljeno u studenom 2022.).

Većina kliničkih pozitivnih učinaka prirodnog klinoptilolita i modificiranog PMA-zeolita pripisuje se njihovoj reverzibilnoj ionskoj izmjeni i adsorpcijskom kapacitetu. Dosadašnja istraživanja PMA-zeolita nisu bila usmjerena na pronalazak novog lijeka, već dodatka prehrani, koji može doprinijeti poboljšanju kvalitete života, u kombinaciji s tradicionalnim farmakološkim liječenjem. Nedavni dokazi ukazuju na obećavajuću detoksikacijsku ulogu PMA-zeolita u uklanjanju toksičnih metabolita, koje proizvode lijekovi, koji se dugotrajno primjenjuju tijekom kemoterapije, dijabetesa ili kardiovaskularnih bolesti. Međutim, bit će potrebna nova i opsežna istraživanja, kako bi se istražile sve potencijalne koristi kojima PMA-zeolit može doprinijeti ljudskom zdravlju [19].

1.4 Multielementalna analiza

Elementalna analiza se u praksi često provodi djelomično zastarjelim metodama, poput atomske apsorpcijske spektrofotometrije (AAS) ili plamenoemisijske spektrofotometrije. Ove metode karakteriziraju niski troškovi analize te se koriste za mjerenje pojedinačnih elemenata, a ne za analizu više elemenata odjednom (multielementalnu analizu).

Induktivno spregnuta plazma u kombinaciji s masenom spektrometrijom (ICP-MS) se koristi za elementalnu analizu već od kasnih 1990-ih. Klasični jedno-kvadrupolni ICP-MS se sastoji od šest osnovnih dijelova: sustav uvođenja uzorka, induktivno-spregnuta plazma (ICP), sučelje, ionska optika, analizator mase i detektor. Slika 10. prikazuje jednostavnu shemu instrumenta. Tekući uzorci se prvo raspršuju u sustavu za uvođenje uzorka, uz stvaranje finog aerosola, koji se zatim prenosi u struju argonske plazme. Visokotemperaturna plazma atomizira i ionizira uzorak, stvarajući ione koji se zatim ekstrahiraju, kroz područje sučelja, u skup elektrostatičkih leća, koje čine ionsku optiku. Ionska optika fokusira i vodi struju iona u kvadrupolni analizator mase. Analizator mase odvaja ione prema njihovom omjeru mase i naboja (m/z), nakon čega se njihova koncentracija mjeri na detektoru [48].



Slika 10. Shematski prikaz jedno-kvadrupalnog ICP-MS uređaja (prilagođeno s mrežne stranice: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6719745/>, pristupljeno u studenom 2022.).

Ključne prednosti ICP-MS metode naspram AAS-a i sličnih klasičnih metoda su veća brzina, preciznost i jednostavnost. To se posebno očituje kod ICP-MS/MS uređaja, s trostrukim kvadrupolom, kakvi se danas koriste, a koji omogućuju multielementalnu analizu, uz iznimnu osjetljivost i specifičnost detekcije. Takvi uređaji predstavljaju zlatni standard u multielementalnoj analizi.

Navedeno se pogotovo pokazalo praktično u rutinskoj medicinskoj dijagnostici, posebice kod određivanja koncentracije elemenata u tragovima. Što se brže i preciznije otkrije i ispravi nedostatak elemenata u tragovima, to je bolja prognoza ishoda bolesti. Postoje različiti protokoli za pripremu bioloških uzoraka za multielementalnu analizu, npr. obrada uzoraka seruma u kiselim uvjetima s pomoću HNO_3 i mikrovalova. Za pripremu uzoraka pune krvi, koristi se metoda u alkalnom području, s amonijakom ili drugim alkalnim reagensima [49].

1.5 Makronutrijenti

Gotovo svaki metabolički proces u ljudskom tijelu koristi minerale, kao važne faktore u biokemijskim i metaboličkim interakcijama, ključnima za ljudsko zdravlje. Minerali ispunjavaju široku paletu funkcija u organizmu posebice imunološkog i kardiovaskularnog sustava [50,51]. Prema količini potrebnoj za normalno funkcioniranje organizma, minerali se mogu podijeliti na makromineralne i mikromineralne.

U kontekstu ljudske ishrane i unosa biološki relevantnih minerala, iste nazivamo mineralnim nutrijentima. Potrebni dnevni unos pojedinog mineralnog nutrijenta ovisi o njegovim fizikalno-kemijskim svojstvima i posljedičnoj fiziološkoj ulozi. Tako se potrebe za mikronutrijentima kod ljudi kreću u količinama općenito ispod 100 mg/dan, za razliku od makronutrijenata koji su potrebni u gramu dnevno. Kalcij (Ca) čini 920 g do 1200 g tjelesne težine odrasle osobe, a 99% ga se nalazi u kostima i zubima čineći 1,5% tjelesne težine. Fosfor (P) se pojavljuje u količinama od oko 2/3 Ca i čini oko 1% tjelesne težine pojedinca. Ostali glavni minerali (Na, Cl, S, Mg i K) čine samo otprilike 0,85 % težine ljudskog tijela [52].

Prema sadašnjim spoznajama, 60 kemijskih elemenata periodnog sustava su sadržani u ljudskom tijelu, ali samo oko 20 njih smatra se neophodnim za život. Među njima su i makro- minerali Na, K, Mg, Ca, Cl, P i S, koje ljudsko tijelo mora imati u odgovarajućim količinama za normalno funkcioniranje. Drugu skupinu elemenata smatramo mikronutrijentima, jer su potrebni u daleko manjim količinama za normalno funkcioniranje organizma. Svi navedeni elementi, naravno, mogu biti otrovni za organizam, u pretjerano visokim količinama, potvrđujući time Paracelsusov princip „doza čini otrov“ [53].

Integrirani pristup bioloških i kemijskih znanosti (metalomika), neophodan je za razumijevanje biologije velikih metalnih iona ili tragova metalnih iona, njihove interakcije i specijacije u pojedinom staničnom odjeljku i čitavom ljudskom tijelu, te njihove biološke funkcije, u korelaciji s njihovim kemijskim svojstvima [54,55].

Pojam mineralni makronutrijenti, označava minerale (kalcij, fosfor, magnezij) i elektrolite (natrij, kalij, klorid), koji su potrebni u ljudskoj prehrani u količinama od 100 mg do nekoliko grama dnevno [56,57]. Kalcij, fosfor i magnezij važni su za mnoge biološke i stanične funkcije. Njihova metabolička ravnoteža posredovana je međudjelovanjem bubrega, crijeva i mineraliziranih tkiva. Kostí služe kao prirodni spremnici ovih minerala, jer sadrže većinu njihove ukupne mase u tijelu. Bubrezi reguliraju njihovu unutarstaničnu koncentraciju, glomerularnom filtracijom i tubularnom reapsorpcijom i/ili sekrecijom. U fiziološkim uvjetima, homeostatska ravnoteža kalcija, fosfora i magnezija održava se finom regulacijom mokraćne ekskrecije i unosa putem bubrega [58,59]. Međutim, specifična regulacija svakog od ovih minerala događa se u različitim dijelovima nefrona [60] i crijevnom traktu [61]. Makrominerali omogućavaju prijenos živčanih impulsa i neuromuskularnu provodljivost. Kalcij je važan u sintezi i otpuštanju neurotransmitera, te igra ulogu vezano uz neuralnu podražljivost i fosforilaciju, ali i u zbivanjima koja karakteriziraju starenje mozga i povišenje razine glukokortikoida. U patogenezi nekih neuralnih bolesti, kao što je Alzheimerova bolest, neravnoteža kalcija i magnezija igra važnu ulogu [62].

I natrij i kalij su, s jedne strane, iznimno važni za mnoge biološke funkcije, no, s druge strane, pretjerani unos natrija predstavlja važan faktor u patogenezi hipertenzije. Nasuprot tome, pojačani unos kalija ima zaštitnu ulogu u regulaciji krvnog tlaka. Dosadašnja su istraživanja pokazala da prehrambene intervencije za smanjenje unosa natrija i povećanje unosa kalija, pozitivno utječu, ne samo na krvni tlak, nego i smanjuju stopu smrtnosti te rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti i bolesti bubrega [63]. Fosfor sudjeluje u gotovo svim metaboličkim procesima [64], održava vitalne ljudske funkcije, poput prijenosa energije do izgradnje staničnih stjenki [65], dok magnezij regulira optimalno lučenje paratireoidnog hormona (PTH) [58].

1.5.1 Kalcij

Važnost kalcija u održavanju zdravlja mineraliziranih tkiva dobro je poznata, no ovaj element ključan je i kod neuromuskularnih aktivnosti, regulacije srčanog ritma, normalnog rada imunološkog sustava, kao i za druge ključne fiziološke procese. U ljudskom tijelu je većina kalcija pohranjena u kostima (više od 99%), posebice u obliku hidroksiapatitnih kristala. Ostatak kalcija u tijelu nalazi se u izvanstaničnim i unutarstaničnim prostorima, gdje je ključan za kontrakcije mišića, zgrušavanje krvi, izlučivanje hormona i unutarstaničnu adheziju [57]. Uravnoteženi unos kalcija je ključan za normalan rast i razvoj kostura, kao i kod mineralizacije kosti. Nedovoljan unos ovog elementa povezan je s hormonalnim poremećajima, koji vode do gubitka kosti (ovisnog o dobi pojedinca) i pojačanog rizika od osteoporoze [66]. Brojne studije su pokazale da adekvatan unos kalcija povećava gustoću koštane mase i smanjuje rizik od lomova kostiju. No, suplementacija kalcija se preporučuje jedino kod pojedinaca, koji su pod povećanim rizikom od nedovoljnog unosa i/ili apsorpcije kalcija, i to zbog potencijalnih negativnih efekata, kao što je pojačani rizik od nastanka bubrežnih kamenaca ili infarkta miokarda [67].

Glavni izvor kalcija iz hrane su mlijeko i mliječni proizvodi. No, značajne količine kalcija se nalaze i u lososu, bademima, lisnatom zelenom povrću, grahoricama i morskim plodovima. Preporučeni dnevni unos kalcija ovisi o dobi pojedinca i varira od 1200 mg/dan kod mladih osoba, do 1000 mg/dan za žene između 25 i 50 godina te do 1500 mg/dan za žene u postmenopauzi [66].

Ravnotežu koncentracije kalcija u tijelu reguliraju tanko i debelo crijevo, bubrezi, kosti i doštitna žlijezda. Većina kalcija apsorbira se u tankom crijevu paracelularnom difuzijom, dok se ostatak kalcija apsorbira kroz stanice putem proteinskog kanala TRPV6. U krvotoku se ovaj element oslobađa u tri različita oblika: slobodni dvovalentni ion, kalcij vezan za protein albumin te u obliku citratnih, fosfatnih ili sulfatnih kompleksa [57].

Adekvatnu razinu koncentracije kalcija u organizmu pojedinca teško je precizno procijeniti, jer ne postoji pouzdani indikator, koji bi povezao određenu razinu

koncentracije kalcija, s određenim statusom bolesti. Njegova ukupna količina u tijelu nije relevantan podatak, s obzirom na činjenicu da tijelo regulira kalcij u vrlo uskom koncentracijskom rasponu. Mjerenje gustoće koštane mase, može nam indirektno ukazati na razinu kalcija u organizmu, kroz duži vremenski period [68].

1.5.2 Kalij

Kalij je glavni kationski sastojak unutarstanične tekućine i čak 98% ukupnog tjelesnog kalija održava se u stanicama [69]. Neophodan je za vitalne biološke funkcije i ključan za održavanje pravilnog membranskog potencijala [70]. Homeostaza ovog elementa regulirana je gastrointestinalnom apsorpcijom i izlučivanjem putem bubrega. Štoviše, čak 90% unesenog kalija gubi se urinom, a ostalih 10% fekalnom ekskrecijom. Inzulin i beta-adrenergički tonus, također igraju ključnu ulogu u održavanju unutarnje distribucije kalija.

Poremećaji promijenjene homeostaze kalija često se nalaze u općoj populaciji. Obično do njih dolazi zbog neuravnoteženog unosa kalija hranom ili poremećaja u bubrežnoj ili gastrointestinalnoj regulaciji ovog elementa. U kliničkoj praksi, često je evidentan nedostatak kalija te se njegov povećani unos u prehrani pokazao kao potencijalno koristan za smanjenje rizika od hipertenzije. Osim toga, adekvatan unos kalija utječe na kontrolu glukoze, smanjenje rizika od dijabetesa, što je posebno izraženo kod pacijenata koji se liječe tiazidskim diureticima, a potencijalno doprinosi zdravlju mineraliziranih tkiva i bubrega [71].

Preopterećenje kalijem nazivamo hiperkalijemija, a može dovesti do opasnih, ponekad i smrtonosnih promjena u srčanom ritmu. Ekstremne razine kalija u serumu i dijalizatu pacijenata podvrgnutih hemodijalizi, koreliraju s povećanim rizikom od aritmija, kardiovaskularnih događaja i smrtnosti. Stoga je obavezno pažljivo praćenje serumskog kalija [72].

U vrlo ranoj životnoj dobi, muškarci održavaju pozitivnu ravnotežu kalija, što je ključno za osiguravanje somatskog rasta. To, s druge strane, može uzrokovati po život opasnu neravnotežu kalija, osobito u nedonoščadi. Ovo stanje se mora odmah korigirati, uz elektrokardiografski nadzor [73].

Nedostatak kalija pokreće zaštitni regulacijski mehanizam u bubrezima, kojim se inhibira izlučivanje ovog elementa. Istodobno, čini se da bubrezi također smanjuju izlučivanje natrija. Ovaj mehanizam bi mogao biti problematičan u modernom dobu,

budući da je ljudska prehrana danas bogata unosom natrija, ali osiromašena unosom kalija. Posljedično, krvni tlak može porasti kod osoba s nedostatkom kalija [69].

1.5.3 Magnezij

Magnezij igra važnu fiziološku ulogu u kontroli različitih ključnih staničnih aktivnosti i metaboličkih putova, uključujući enzimatske, strukturne i membranske funkcije. Ovaj mineral se nalazi u raznim enzimima i stanicama, poput mišićnih stanica, te je njegova fiziološka uloga posebno važna u srcu, mozgu i koštanom tkivu, a ujedno sudjeluje i u transportu drugih iona kroz stanične membrane, gdje igra važnu ulogu u kontrakciji mišića i u kontroli ekscitabilnosti neurona [74].

Stanična homeostaza magnezija povezana je sa staničnim metabolizmom drugih iona (kalija, natrija, kalcija). Naime, magnezij utječe na izvanstanične razine kalcija i sudjeluje u više od šest stotina enzimskih reakcija i potreban je za aktivnost protein kinaza, glikolitičkih enzima, kao i za sve procese fosforilacije te za reakcije koje uključuju adenozintrifosfat (ATP), kao što su energetske metabolizam i sinteza proteina [75]. No, klinička praksa za sada još nije prepoznala važnost rutinske procjene razina magnezija u serumu [75].

Dosadašnja istraživanja pokazala su da je u zapadnim zemljama prosječan unos ovog minerala hranom često neadekvatan i značajno niži od preporučenog dnevnog unosa. Navodi se da gotovo 2/3 Amerikanaca dnevno unosi ispodprosječne količine magnezija [76]. Neravnoteža magnezija povezana je sa sustavnim znakovima i simptomima koji utječu na koštana, kardiovaskularna i živčana tkiva ili dovode do metaboličkih poremećaja. Hipomagnezijemija (snižena koncentracija magnezija u krvi) može dovesti do razvoja osteopenije, osteoporoze ili prijeloma kostiju. To se događa kao izravna posljedica sekvenciranja magnezija iz koštanog tkiva, kako bi se održale njegove homeostatske razine u serumu [77]. Spomenuti nedostatak magnezija također može biti povezan s nedostatkom PTH i kalcija, poznatim kao hipoparatiroidizam, odnosno hipokalcemija [78]. Obično se nalazi kod ljudi koji pate od komorbiditeta, poput dijabetesa ili sepse, pri čemu korištenje određenih farmakoloških terapija za ove bolesti može pozitivno utjecati i na razinu koncentracije magnezija u tijelu.

Hipermagnezijemija, odnosno prekomjerna razina koncentracije ovog minerala u krvi, odnosno organizmu, se u praksi rijetko događa. Prvenstveno je opisana kod pacijenata

sa smanjenom funkcijom bubrega, koji su izloženi većim dozama antacida i/ili laksativa, što može uzrokovati blaže simptome poput mučnine i glavobolje, ali i dovesti do ozbiljnijih zdravstvenih tegoba, kao što su apneja, koma ili zatajenje srca [79].

1.5.4 Natrij

Natrij je najvažniji kationski konstituent izvanstanične tjelesne tekućine, gdje je njegova visoka koncentracija omogućena djelovanjem Na/K pumpe. Ova biološki važna pumpa, izbacuje natrij iz stanice u izvanstanični prostor, nasuprot koncentracijskom gradijentu uz trošenje energije, korištenjem adenozintrifosfata (ATP). Ovaj mineral je uključen u održavanje normalne stanične homeostaze i regulaciju tjelesnih tekućina, ravnoteže elektrolita i krvnog tlaka. Posebice je važan za održavanje volumena izvanstanične tekućine zbog važne osmotske aktivnosti te je jednako važan za podražljivost mišića i živčanih stanica, kao i za transport hranjivih tvari i substrata kroz plazmatske membrane [80]. Natrij igra ključnu ulogu u raznim funkcijama živčanog i mišićnog sustava te je važan za staničnu signalizaciju i prisutan je u raznim biološkim procesima.

Ravnoteža ovoga minerala u tijelu usko je vezana uz ravnotežu vode i primarno je regulirana bubrezima. U njima se natrij filtrira u glomerulima i resorbira do najviše 1/10 njegove ukupne količine. Male količine natrija gube se i fekalnom ekskrecijom i znojenjem [80]. Disregulacija ravnoteže natrija, glavni je čimbenik rizika za hipertenzivnu kardiovaskularnu bolest. Intersticijske razine natrija lako se uravnotežuju s razinama u plazmi. Smatra se da je ovaj proces balansiranja izravno reguliran bubrežnim izlučivanjem i unosom vode [81]. Međutim, čini se da obrasci izlučivanja natrija pokazuju mjesečne intradijanske ritmove koji su neovisni o izvanstaničnoj vodi, tjelesnoj težini ili krvnom tlaku [82]. Stoga bi se natrij mogao akumulirati u tkivima bez odgovarajućeg zadržavanja volumena i aktivirati imunološke stanice, što dovodi ne samo do hipertenzije već i do autoimunih bolesti [81,83].

Visoki udio procesirane hrane sa značajnim količinama natrija u suvremenoj prehrani povezan je s dramatičnim porastom kardiovaskularnih bolesti u svijetu. Osim pojačanog rizika za spomenute bolesti, visoki unos ovog minerala povećava rizik od bubrežnih bolesti i njihove progresije, kao i rizik od moždanog udara. Nadalje, prekomjerni unos natrija neizravno je povezan s pretilošću i metaboličkim sindromom, preko povećane žeđi i pretjerane konzumacije zaslađenih napitaka. Također povezan je s nefrolitijazom, osteoporozaom i pojačanim rizikom od raka želudca [80]. Čini se da

je restrikcija natrija u prehrani klinički najkorisniji pristup poboljšanju kontrole bolesti u bolesnika na dijalizi, budući da preopterećenje natrijem pretežno povećava rizik za razvoj hipertenzije [84].

1.5.5 Fosfor

Fosfor je drugi najzastupljeniji mineral u ljudskom tijelu te pridonosi ukupnoj tjelesnoj masi s 1%. Ovaj element podjednako nalazimo u unutarstaničnom prostoru, kao i izvan stanice. U tijelu se primarno nalazi kao strukturna komponenta mineralnih tkiva i DNK molekula. Njegova kemijska svojstva omogućavaju bipolarnost lipidnih membrana i cirkulirajućih lipoproteina. U metabolizmu igra kritičnu ulogu kod proizvodnje i pohrane energije u fosfatnim vezama. Nadalje, ovaj mineral važan je za održavanje pufera u cirkulaciji, izgradnju transkripcijskih faktora kao i aktiviranje enzimske katalize i stanične signalizacije [85].

Fosfor se u izobilju nalazi u modernoj zapadnjačkoj prehrani, jer se prirodno nalazi u jelima bogatim proteinima, a rutinski se dodaje u proizvodnji prerađene hrane. Visoki unos fosfora može dovesti do vaskularne i bubrežne kalcifikacije, što na kraju dovodi do oštećenja bubrežnih tubula, razvoja kronične bolesti bubrega, pa čak i smrti. Pretjerani unos fosfora također može imati štetne posljedice za koštani i kardiovaskularni sustav [86,87].

Sve donedavno, bubreg se smatrao glavnim organom koji regulira homeostazu fosfora putem paratireoidnog hormona 2 (PTH2) i regulacije vitamina D. Međutim, sada je očito da je složeniji sustav mreže organa (kosti-bubrezi-crijeva) uključen u homeostatsku kontrolu serumskog fosfata unutar fiziološkog raspona. Gore spomenuta mreža organa djeluje kroz složene, ali uređene višestruke petlje negativne endokrine povratne sprege, između PTH, faktora rasta fibroblasta 23 (FGF-23), Klotho i vitamina D [88].

Nedostatak fosfora ili hipofosfatemija rijedak je slučaj u zdravoj populaciji zbog široke dostupnosti fosfora u većini namirnica. U kliničkoj medicini je opisan kod specifičnih genetskih poremećaja, zatim kod tumorske kaheksije i specifičnih poremećaja u prehrani (npr. anoreksija) i alkoholizma [88]. Smanjena bioraspoloživost fosfora ili prekomjerni gubici ovog minerala u urinu, također mogu uzrokovati rahitis i osteomalaciju [89]. Čini se da se količina fosfora iz crijeva smanjuje s godinama, neovisno o razinama unosa fosfora hranom [90].

1.6 Mikronutrijenti

Pojam mikronutrijenti podrazumijeva vitamine i minerale neophodne za normalno funkcioniranje organizma, a koji se ne mogu sintetizirati u samom organizmu, već se unose prehranom. Mikronutrijenti su uključeni u gotovo sve metaboličke i stanične funkcije, među ostalima: primarni i sekundarni metabolizam, zaštita stanica, regulacija gena i hormona, prijenos signala i reprodukcija, a sve navedeno ukazuje koliko je važno da njihov unos u organizam bude adekvatan [91].

Stanja nedostatka pojedinačnih mikronutrijenata relativno se lako prepoznaju i liječe [92,93]. Uravnotežene razine koncentracija minerala u tragovima, kao što su Fe, Zn, Se i Cu, ključne su za sprječavanje progresije brojnih kroničnih bolesti.

Njihov disbalans je, primjerice, štetan za zdravlje parodonta, na način da njihov manjak može pogoršati parodontitis povezan sa sustavnim stanjima poput dijabetesa [94]. Nadalje, neki elementi u tragovima, npr. Se, Zn i Cu, sastavni su sastojci antioksidativnih enzima i sprječavaju destrukciju tkiva posredovanu reaktivnim kisikovim vrstama (oksidativni stres). Među mineralnim mikronutrijentima neophodnima za imunokompetentnost su Fe, Se i Zn. Imunološka funkcija može se poboljšati, vraćanjem mikronutrijenata koji su u manjku, na preporučene razine koncentracija, čime se povećava otpornost na infekcije i podupire brži oporavak nakon infekcije, što može biti posebno izazovno u kasnoj životnoj dobi, u kojoj dolazi do pojačane potrebe za mineralnim nutrijentima [95].

Subklinički nedostatak, često višestrukih mikronutrijenata, teže je prepoznati, a laboratorijska procjena često je komplicirana upalnim odgovorom akutne faze. Klinička korist suplementacije mineralima je najvjerojatnija kod onih ljudi koji su ozbiljno iscrpljeni i pod rizikom od komplikacija, primjerice kod kroničnih bolesti i kod djece u zemljama u razvoju koja se nedovoljno hrane [96].

S druge pak strane, prekomjeren unos mineralnih mikronutrijenata može dovesti do stvaranja reaktivnih vrsta kisika i oksidativnog stresa, kao i do ektopičnog vezanja metala na proteine, čime se narušava struktura proteina [91]. Osim prethodno

navedenih stanja, mikronutrijenti (minerali/vitamini) igraju središnju ulogu u regulaciji krvnog tlaka, budući da pomažu funkciju makronutrijenata i također pospješuju djelovanje nekih antihipertenzivnih lijekova [97].

1.6.1 Bakar

Bakar je važan element u tragovima koji služi kao katalitički i strukturni kofaktor u procesima kao što su: enzimske reakcije za stvaranje energije, preuzimanje željeza, transport kisika, stanični metabolizam, izgradnja hormona, zgrušavanje krvi i stanična signalizacija [98]. Ovaj mineral je kritična funkcionalna komponenta niza enzima povezanih s oksidativnim stresom, npr. superoksid dismutaze (SOD), citokrom C oksidaze (CCO) u mitohondrijima i tirozinaze [49].

Bakar dijeli slična svojstva sa željezom s kojim je i tijesno povezan u brojnim fiziološkim interakcijama. Ovaj element može pozitivno utjecati na homeostazu željeza, dok željezo može antagonizirati metabolizam bakra. Kada su razine željeza niske, bakar se redistribuira u tkiva, koja su važna za ravnotežu željeza. Bakar pospješuje biosintezu cirkulirajuće feroksidaze, te potencira otpuštanje željeza iz zaliha, također utječući na DNK vezanje inducibilnih faktora hipoksije (HIF faktora), koji moduliraju homeostazu željeza u crijevima, te može regulirati aktivnost hepcidina. Štoviše, smanjenje bakra može se uočiti kod poremećaja karakteriziranih preopterećenjem željezom, poput nasljedne hemokromatoze ili kao posljedica suplementacije željezom u visokim dozama, što je posebno problematično u trudnoći [99].

Opservacijska istraživanja pokazala su vezu između povećanog unosa bakra (cca 0,6 mg/dan) i rizika od kardiovaskularnih bolesti, narušavanja kognitivnih funkcija, artritisa, Wilsonove bolesti i raka. Međutim, podaci su oskudni i nedosljedni, te su daljnja istraživanja nužna, prije donošenja konačnih zaključaka [100].

Niske razine bakra povezane su s anemijom, neutropenijom i patološkim promjenama mineraliziranih tkiva te Menkesovom bolesti [49,101]. Kada se poveže s pogrešno savijenim proteinima, čini se da poremećena homeostaza bakra sudjeluje u napredovanju Alzheimerove bolesti [102]. Toksičnost bakra je slična toksičnosti željeza, budući da su oba uključena u redoks reakcije i potiču stvaranje slobodnih radikala [103]. U kombinaciji s nedostatkom cinka, preopterećenje bakrom dovodi do

povećanog oksidativnog stresa i razvoja imunoloških, onkoloških, degenerativnih i upalnih bolesti [104].

1.6.2 Željezo

Željezo je element u tragovima s važnom ulogom u prijenosu kisika, npr. u hemoglobinu eritrocita, a manjak željeza završava anemijom. Željezo je važan mikroelement za brojne temeljne biološke procese. Kod ljudi se obično nalazi ugrađen u proteine, koji su ključni za održavanje vitalnih staničnih i organskih funkcija, kao što su: transport kisika, mitohondrijsko disanje, metabolizam, replikacija i popravak nukleinskih kiselina, obrana od patogena i stanična signalizacija [105].

Biološki dostupno željezo prilično je rijetko, a ljudi ga učinkovito čuvaju i recikliraju. Većina željeza sadržana je u hemoglobinu crvenih krvnih zrnaca i recikliraju ga makrofagi, koji predstavljaju glavno mjesto skladištenja željeza, zajedno s hepatocitima jetre. Željezo se apsorbira u duodenalnom dijelu tankog crijeva, a izlučivanje urinom je zanemarivo, zbog visokog udjela željeza vezanog za proteine i višestrukih mehanizama čuvanja željeza u bubrezima [106,107].

S druge strane, željezo je potencijalno toksično za ljude, budući da se može uključiti u redoks reakcije s kisikom i vodikovim peroksidom, te uzrokovati stvaranje slobodnih radikala koji predstavljaju rizik od oštećenja DNK, proteina i lipida, što posljedično može uzrokovati oštećenje jetre, fibrozu, zatajenje srca ili čak rak.

Stoga su ljudi i drugi organizmi razvili specifične mehanizme, posredovane proteinima, za regulaciju homeostaze željeza, kako bi se spriječilo preopterećenje željezom [108,109]. Jedan od takvih regulatornih mehanizama koristi hormon hepcidin i njegov receptor feroportin. Patološko povećanje hepcidina u cirkulaciji izaziva inhibiciju duodenalne apsorpcije i makrofagne sekvestracije željeza, što naposljetku uzrokuje manjak ovog elementa za eritropoezu, doprinoseći razvoju anemije u bolesnika s kroničnom bolešću bubrega, kroničnim upalnim bolestima, nekim vrstama raka i nasljednim bolestima, kao što je, primjerice, refraktorna anemija uzrokovana nedostatkom željeza [110-113]. Nasuprot tome, nedostatak hepcidina uzrokuje preopterećenje željezom i razvoj nasljedne hemokromatoze i netransfuzijske β -talasemije [112]. Sportaši koji se bave vježbama izdržljivosti izloženi su povećanom

riziku od razvoja nedostatka željeza te im se savjetuje da povećaju unos željeza putem prehrane, prilagodbom prehrane ili dodacima željeza [113,114].

1.6.3 Mangan

Mangan je prvenstveno važan za razvoj neuralnih stanica i tkiva, kao i za samu kogniciju [115], te je neravnoteža ovog elementa izravno povezana s neuralnim i kognitivnim oštećenjima [116].

Visoke razine neurotoksičnosti izazvane manganom u mozgu [117] i pretjerana izloženost ovom metalu, mogu dovesti do razvoja manganizma, sindroma usko povezanog s Parkinsonovom bolešću [118,119]. Ovaj sindrom usko je povezan s određenim zanimanjima, kao što su varenje, rudarenje, proizvodnja čelika i slično, te se kod same dijagnoze vodi računa i o profesionalnoj izloženosti, uz kliničku sliku te laboratorijske nalaze krvi i urina. Ovu bolest karakteriziraju prije svega simptomi vezani uz kogniciju: dezorijentacija, oštećenje pamćenja i prosuđivanja, akutna tjeskoba, emocionalna labilnost, kompulzivne radnje, halucinacije, iluzije i zablude [120].

Gastrointestinalni trakt vrlo je važan za održavanje homeostaze cinka, bakra i mangana, što je također relevantno za modulaciju sastava crijevne mikrobiote [121]. Mangan ujedno regulira preživljavanje patogenih i simbiotskih bakterija, budući da je kofaktor različitim enzimima, uključenima u metabolizam ugljikohidrata i nukleinskih kiselina i staničnu signalizaciju. Mangan također štiti stanice od oksidativnog stresa, prvenstveno razgradnjom reaktivnih kisikovih radikala.

Međutim, unatoč navedenim korisnim ulogama mangana, njegov višak remeti ravnoteže drugih iona te uzrokuje pogrešnu metalizaciju važnih proteinskih regulatora i enzima, smanjenu osjetljivost na kisikove radikale, a može dovesti i do oštećenja pluća [122,123].

Znakovi nedostatka mangana uključuju poremećen rast, poremećenu reproduktivnu funkciju, abnormalnosti kostura, poremećenu toleranciju glukoze i promijenjeni metabolizam ugljikohidrata i lipida, ali sam slučaj nedostatka mangana u praksi nije čest [123].

1.6.4 Selenij

Selenij je, kao mikronutrijent s antioksidativnim svojstvima, dio brojnih metaboličkih sprega, sudjelujući na taj način u metabolizmu hormona, imunomodulacijskim mehanizmima, staničnoj diobi (sinteza nukleinskih kiselina) i antikancerogenom djelovanju. Uz zaštitu od oštećenja oksidativnim stresom, podržavanje imunosnog odgovora na infekciju (bilo kroz upalne mehanizama, bilo kroz umnažanje i/ili proliferaciju imunokompetentnih stanica), važan je i za razmnožavanje, odnosno plodnost čovjeka [124].

Većina selenija u organizmu vezana je za proteine, koji se nazivaju selenoproteini. Ukoliko se radi o enzimima, kao što su selenocistein i glutathion peroksidaza, onda se selenij obično nalazi unutar veznog mjesta, sudjelujući na taj način u aktivnosti enzima, primjerice u zaštiti od oštećenja prouzročenih oksidativnim stresom, na način da sudjeluje u redoks procesima [125]. U svezi s tim, selenij pokazuje i protektivnu ulogu protiv toksikološkog opterećenja raznim toksikantima [126].

Zbog relativno uskog fiziološkog raspona u organizmu, postoji realna bojazan od prekomjerne suplementacije selenijem, s posljedičnim toksičnim učincima [125]. S druge pak strane, zna se da je manjak selenija povećava rizik od smrtnosti kod teških i višestrukih ozljeda te infekcija s razvojem sepse. To je primjerice otkriveno u teškim slučajevima COVID-19, gdje se pokazalo da su razine selenija bile znatno više kod preživjelih pacijenata, u usporedbi s onima koji su podlegli ovoj bolesti. Stoga se serumski selenij predlaže kao učinkovit biljeg težine COVID-19. Štoviše, suplementacija selenijem savjetuje se u terapiji [127], slično kao i u kardiokirurgiji u sklopu pripreme za operativni zahvat. [124].

Selenij je pokazao blagotvorno djelovanje i na žensku plodnost, tijekom gestacije i zdravlje majke [128].

1.6.5 Cink

Cink sudjeluje u čitavom nizu različitih fizioloških funkcija i bioloških procesa, uključujući prijenos signala unutar stanice i među stanicama, uključujući i imunomodulacijsku funkciju. Obično se nalazi u organizmu kao dvovalentni kation (Zn^{2+}), koji ne sudjeluje u reduksijsko-oksidacijskim reakcijama. Nakon željeza, drugi je mikronutrijent u ljudskom tijelu po svojoj količini. Metaloenzimi s cinkom su izuzetno česti, zbog čega imaju ulogu u različitim biokemijskim reakcijama [129].

Zbog činjenice da je cink uključen u najrazličitije fiziološke procese i biokemijske reakcije, njegov manjak u organizmu može imati brojne i ozbiljne posljedice [130,131] te biti uzrokom širokog spektra simptomatologije. Njegov manjak zabilježen je još 1961. godine u Iranu. Danas je manjak cinka prisutan u dijelovima svijeta s učestalom konzumacijom žitarica i slabim unosom mesa i drugih namirnica životinjskog podrijetla. Pri tome valja uzeti u obzir da problem ne mora biti samo u unosu hrane s malim sadržajem cinka, već i u njegovoj bioraspoloživosti, posebice u odnosu na djelovanje inhibitora njegove apsorpcije, kao što je fitinska kiselina [132].

Ukoliko manjak cinka traje dulje vrijeme i ništa se ne poduzima kako bi se on kompenzirao, moguć je i smrtni ishod, dok blaži poremećaji mogu uključivati patofiziološki povezan gubitak tjelesne mase, smanjen osjet okusa i smanjen apetit, uz promjene raspoloženja, noćnu sljepoću, gubitak kose, usporeno cijeljenje ozljeda i sl. [130]. Ako se manjak cinka pojavi tijekom rasta i razvoja djeteta (od najranije dobi pa sve do adolescencije), može doći do poremećaja razvoja [132].

Pokazalo se da suplementacija cinkom i klinički ima smisla, posebice kao potpora u terapiji zaraznih bolesti, kao što je malarija, ali i kod sindroma enterokolitisa [133,134].

1.7 Teški metali

Metali su sveprisutni i prirodno se pojavljuju u Zemljinoj kori i atmosferi, ali njihove koncentracije u okolišu rastu. Ovo povećanje je u velikoj mjeri nusprodukt ljudskih aktivnosti kao što su, na primjer, poljoprivreda, teška industrija, transport, kozmetika, prirodni lijekovi i industrija ljepote [124,135,136]. Posebno zabrinjava povećana zastupljenost teških metala, koje karakterizira visoka atomska težina i gustoća od najmanje 5 g/cm³. Ovi metali izuzetno negativno utječu na okoliš i žive organizme.

Općenito se teški metali smatraju toksičnima, ovisno o kemijskoj vrsti, dozi, putu izlaganja, kao i o dobi, spolu, farmakogenetici i statusu prehrane izloženih osoba. Među njima su vrlo opasni arsen (As), kadmij (Cd), krom (Cr) i olovo (Pb) [140]. Smatraju se sustavnim otrovima, jer su sposobni izazvati oštećenja više organa i organskih sustava, čak i pri niskim koncentracijama, prvenstveno indukcijom oksidativnog stresa i oštećenja mitohondrija [137,138].

Njihova toksičnost može biti akutna ili kronična, ovisno o apsorbiranoj dozi, putu i trajanju izloženosti. Čak i male količine teških metala, mogu uzrokovati zdravstvene tegobe. Dugotrajno izlaganje ovim elementima, koje se kratkoročno ne smatra štetnim (npr. putem kozmetike), može dovesti do različitih toksičnih učinaka, poput alergijskog kontaktnog dermatitisa ili sustavne toksičnosti [139].

Malo se metala može ukloniti iz živog organizma eliminacijom (npr. aluminij), a većina se nakuplja u tijelu, donoseći time dugoročne zdravstvene rizike. Mehanički gledano, oni se vežu na proteine, istiskujući izvorne metale iz njihovih prirodnih mjesta, uzrokujući neispravan rad proteina, stanica i tkiva. Oksidativno propadanje biomolekula prvenstveno je posljedica vezanja teških metala na DNK i nukleinske proteine [140]. Posljedične zdravstvene komplikacije mogu uključivati osteoporozu, karcinogenezu, neurodegeneraciju, oksidativni stres, oštećenje DNK i propadanje imunološkog sustava, otkazivanje organa i poremećaje u reprodukciji [135,141-143]. Neki su metali posebno otrovni za osjetljive organske sustave fetusa, dojenčadi i male djece, koja se brzo razvijaju. Osobito to vrijedi za olovo i živu, koji lako mogu prijeći placentarnu barijeru i oštetiti mozak fetusa, pri čemu je važno napomenuti da djeca

dobivaju veće doze metala iz hrane nego odrasli, jer konzumiraju više hrane u odnosu na svoju tjelesnu težinu.

Iako se opsežno istražuju pojedinačne zdravstvene opasnosti izloženosti olovu, kadmiju i živi, sve više pozornosti se posvećuje ispitivanju i analiziranju njihovog sinergijskog učinka. Kombinirana izloženost ovim otrovnim tvarima, u ekološki relevantnim koncentracijama, uzrokuje oštećenja više organa, kao i oštećenje neurobihevioralnih funkcija štakora [144].

Nekoliko teških metala smatra se esencijalnim i nutritivno vrijednim, jer igraju važnu ulogu u ljudskoj fiziologiji. Ostali teški metali poput arsena, kadmija i olova uobičajena su zagađivala hrane (ksenobiotici), s nepoznatom biološkom funkcijom, ali znatnim i poznatim negativnim učinkom na ljudsko zdravlje [123,144]. Nakupljanje teških metala u ljekovitim biljkama od davnina korištenima za liječenje mnogih bolesti također predstavlja prijetnju ljudskom zdravlju [145]. Negativne posljedice izloženosti teškim metalima ogledaju se kroz upale, oksidativni stres i crijevne poremećaje, povezane s poremećajem sastava i metaboličkog profila crijevne mikrobiote. Probiotski sojevi i njihovi enzimi mogu pomoći u ublažavanju ovih učinaka [146].

Međutim, neki minerali u tragovima, koje po definiciji svrstavamo u grupu teških metala zbog visoke specifične gustoće, također pokazuju korisne učinke u ublažavanju toksičnosti metala. Jedan takav element je selenij, koji izdvaja arsen i kadmij i ugrađuje ih u inertne komplekse. Štoviše, selenij inducira putanju nuklearnog faktora eritroidno izvedenog 2-sličnog 2 (Nrf2). Ovaj visoko biološki aktivan protein snažan je regulator toksičnosti metala. Pokreće izmjenu oksidativnog stresa oslobađanjem antioksidansa [147-149].

1.7.1 Aluminij

Aluminij je najrasprostranjeniji metal u okolišu [150]. Prirodno se pojavljuje u trovalentnom stanju (Al^{3+}), vezan za silikate, okside, hidrokside ili organske molekule [151]. U novije doba, ljudske industrijske aktivnosti značajno pridonose povišenoj izloženosti aluminiju [152,153]. Štoviše, povećana kiselost tla, uslijed ljudskih aktivnosti, potiče toksično djelovanje aluminija na floru i faunu [154]. Štetnost ovog metala uglavnom proizlazi iz njegove prooksidativne aktivnosti i posljedičnog oksidativnog stresa, kao i razgradnje staničnih proteina i lipida. Kronično prekomjerno izlaganje aluminiju može izazvati oksidativni stres, upalu tkiva, genotoksičnost, karcinogenezu, teratogenezu, nekrozu tkiva, endokrini poremećaj, pojavu dijabetesa, inhibiciju stvaranja hrskavice i kostiju, hipertenziju, ishemijski moždani udar i trombozu [151].

Cirkulirajući aluminij obično je vezan za transferin, koji, čini se, potencira ulaz aluminija u središnji živčani sustav, na način sličan željezu [155]. Sukladno tome, povišene razine koncentracije aluminija u mozgu su štetne, a povezanost taloženja aluminija u mozgu u korelaciji je s neurotoksičnim učincima, patogenezom Alzheimerove bolesti [156,157]. i poremećajima iz spektra autizma [158]. Stoga bi, uklanjanje aluminija iz organizma, moglo biti koristan terapijski pristup u ovim stanjima, kao što je već viđeno kod pacijenata s Alzheimerovom bolešću. Njihov kognitivni status poboljšan je nakon oralne primjene mineralne vode bogate silicijevim dioksidom [159].

1.7.2 Arsen

Arsen je otrov bez okusa i mirisa, široko rasprostranjen u hrani, vodi, zraku i tlu. U prirodi se obično nalazi u četiri valentna stanja: As(0), As(III), As(V) i plin arzin [160]. Arsen je izuzetno toksičan, primarno kroz mehanizam oksidativnog oštećenja posredovanog reaktivnim kisikovim vrstama (ROS). Ujedno, poznato je da narušava morfološku cjelovitost mitohondrija. Anorganski arsen pokazuje veću toksičnost od organskog arsena [161]. Arsenovu toksičnost naglašava njegov izraženi afinitet vezanja i inhibicije seleno-enzima, koji su poznati hvatači reaktivnih kisikovih vrsta [162]. To uzrokuje višestruke promjene u ponašanju stanica kroz promjene u signalnim putovima i epigenetskim modifikacijama, kao i izravno oksidativno oštećenje proteina i lipida [163].

Akutno trovanje arsenom uzrokuje bolove u trbuhu i gastrointestinalne [164], dok produljena izloženost arsenu može uzrokovati lezije kože, razvoj novotvorina, perifernu neuropatiju, kardiovaskularne bolesti i neurorazvojne probleme [162].

Mehanizmi kojima arsen potiče razvoj nezaraznih bolesti su kompleksni i još uvijek nedovoljno razjašnjeni. Dosadašnja istraživanja pokazuju da izloženost arsenu, uz oksidativni stres, izaziva i promjene DNK metilacije, modifikacije histona te promjene u izražaju mikroRNK molekula. Sve navedene promjene smatraju se ključnima za nastanak zloćudnih bolesti [165]. S druge strane, poznat je utjecaj ovog elementa i na razvoj dijabetesa, gdje igra nekoliko ključnih uloga, kroz indukciju stanične smrti beta stanica gušterače, smanjenje inzulinske sekrecije, izazivanje inzulinske rezistencije i smanjeni stanični unos glukoze [166].

Trovanje arsenom predstavlja ogroman zdravstveni problem širom svijeta. Stoga se predlažu različiti pristupi smanjenju izloženosti ovom elementu iz opterećenog okoliša [167,168]. Štoviše, neke tvari pružaju korisne terapijske učinke kod osoba koje su već bile izložene akutnom ili kroničnom trovanju arsenom. U takve se svrhe već koriste terapijski ditioli, koji potiču kelaciju [162], i antioksidansi, koji pružaju zaštitnu ulogu protiv oksidativnog stresa uzrokovanog arsenom [161,163]. Međutim, pored svog toksičnog učinka, arsen neočekivano pokazuje i medicinski benefit. Konkretno,

arsenov trioksid uvelike poboljšava preživljenje pacijenata, koji boluju od akutne promijelocitne leukemije, na način da direktno potiče diferencijaciju i apoptozu malignih stanica [169].

1.7.3 Kadmij

Kadmij nema poznatu biološku funkciju kod ljudi, ali ima vrlo nisku stopu izlučivanja, kao i tendenciju nakupljanja u organima (npr. mozgu, jetri, bubrezima i testisima), uzrokujući njihova oštećenja. Smanjuje reproduktivnu sposobnost kod oba spola, čak i pri malim dozama [170].

Izloženost ovom elementu se prvenstveno događa putem probave kontaminirane hrane i vode. U malim količinama, prisutan je u većini namirnica, kao što su žitarice od cjelovitog zrna, voće, korjenasto povrće, meso i riba. Najveće razine Cd nalaze se u iznutricama (bubrezima i jetri) sisavaca, te u dagnjama, kamenicama i Jakobovim kopicama [124]. Također značajan unos kadmija odvija se i udisanjem duhanskog dima i konzumacijom samih cigareta.

Epidemiološki podaci sugeriraju da je izloženost kadmiju povezana s nastankom raka dojke, pluća, prostate, nazofarinksa, jetre i bubrega. Kadmij je rizični faktor i za nastanak osteoporoze [171]. Nakon udisanja, kadmij najviše oštećuje pluća, a nakon unosa probavnim putem, dovodi do oštećenja jetre. No, u oba slučaja najviše se nakuplja u bubrezima [172], u kojima se toksični učinci ispoljavaju kao rezultat preferencijalnog unosa receptorom posredovane endocitoze u proksimalnim tubulima. To izaziva proteinuriju, koja može napredovati do bubrežnog Fanconijevog sindroma i zatajenja bubrega [173]. Kako bi izvršio toksični učinak, kadmij mora ući u unutarstanični prostor [174], gdje izaziva oksidativnu, apoptotičku, spermalnu i steroidogenu toksičnost [175]. Pretpostavlja se da je oksidativni stres glavni okidač patoloških promjena izazvanih ovim elementom. Kadmij oštećuje mitohondrije i tako uzrokuje smanjenu proizvodnju energije (ATP), a potiče nastanak ROS. Kao i arsen, ovaj element uzrokuje epigenetske promjene, kao što su kemijske modifikacije DNK, histona, transkripcijskih faktora i mijenja izražaj mikroRNK molekule [171]. Međutim, ovaj metal ima imunomodulatornu funkciju, odnosno može potaknuti oslobađanje kemokina, regulirati ekspresiju gena i ublažiti upalu [176]. Iako se provode opsežna istraživanja, još uvijek nisu dostupni učinkoviti kadmijevi protuotrovi [177].

1.7.4 Kobalt

Kobalt se relativno rijetko nalazi u prirodi, obično u obliku spojeva poput arsenida, oksida i sulfida. Iako je biološki relevantan za stvaranje vitamina B-12, prekomjerna izloženost ovom metalu korelira s nekoliko patoloških stanja, kao što su: umanjena aktivnost štitnjače, intersticijska plućna fibroza i kardiomiopatija [178]. Prvenstvena meta kobaltove toksičnosti je respiratorni sustav. To je pogotovo evidentno u industriji, kod radnika izloženih povišenim dozama kobalta, kod kojih se obično javljaju simptomi kao što su astma, upala pluća, teško disanje i alergije [179]. Međutim, ovaj metal nema dovoljno individualnog potencijala da izazove plućne bolesti, nego je njegov utjecaj povezan uz zajedničko djelovanje s karbidima drugih metala [180]. Osim spomenute profesionalne izloženosti kobaltu, u praksi su vidljive i okolišna, prehrambena i medicinska izloženost. Među njima, oralni unos i unutarnja izloženost izazvana migracijom kobalta iz implantata kuka, predstavljaju najveću opasnost za razvoj sistemske toksičnosti. Pri tome, izgleda da je oslobađanje slobodnog kobalta u obliku dvovalentnog iona Co^{2+} , nakon dugotrajnog prekomjernog izlaganja ovom elementu, uzrok kroničnog trovanja [181]. Osim spomenutih utjecaja na razne organske sustave, kobalt utječe i na živčani sustav. Neurotoksičnost kobalta zabilježena je u izoliranim slučajevima, a nikada nije bila sustavno liječena. Bilateralna optička atrofija i retinopatija, bilateralna gluhoća živaca i senzorno-motorna polineuropatija davno su opisane kao posljedica kronične profesionalne izloženosti kobaltnom prahu ili tijekom dugotrajnog liječenja anemije kobaltovim kloridom. Nedavno je za neke pacijente s visokim razinama kobalta koji se oslobađa iz metalne proteze navedeno da imaju tinitus, gluhoću, vrtoglavicu, promjene vida, optičku atrofiju, tremor i perifernu neuropatiju [182]. U mikroorganizmima, kobalt je visoko receptivan za željezo-sumporne proteine, te denaturacijom tih proteina narušava homeostazu željeza i potiče oksidativni stres [183]. Za razliku od rezultata primijećenih kod bakterija, kod sisavaca je utvrđeno da spojevi ovog elementa imaju genotoksično, karcinogeno i mutageno djelovanje. Izloženost kobaltu izaziva oštećenje DNK molekule te stvaranje mikronukleusa. Iako, točni mehanizmi djelovanja kobalta na ljudske stanice još nisu u potpunosti shvaćeni, uočeno je da oštećenje DNK molekula izazivaju aktivne kisikove vrste (ROS), nastale redoks djelovanjem ovog elementa. Pri tome valja napomenuti da su elementalni kobalt i mješavine metala toksičniji od metalnih spojeva [179].

1.7.5 Nikal

Nikal se prirodno nalazi u vrlo malim količinama u okolišu, prvenstveno vezan za kisik ili sumpor u Zemljinoj kori. Međutim, industrijske aktivnosti, poput proizvodnje i upotrebe gnojiva, kemikalija i kanalizacijskog mulja, povećale su njegovu prisutnost do nepoželjnih razina [184].

Nikal ima brojne primjene, jer posjeduje izvrsna fizikalno-kemijska svojstva, kao što su otpornost na visoke temperature, koroziju i oksidaciju, a uz to je i relativno jeftin. Ovaj metal koristi se za izradu nakita, ključeva, patentnih zatvarača, kućnih aparata od nehrđajućeg čelika, električne opreme, kovanica, pigmenata i katalizatora [185].

Glavni putevi unosa nikla u organizam su udisanje, koje predstavlja osnovni put indukcije niklom izazvanog raka te adsorpcija putem kože, kao i unos putem prehrane. Zadnja dva navedena puta unosa ovog metala su odgovorni za nastanak sistemskog dermatitisa [186]. Ovaj metal nije kumulativni toksin kod životinja i ljudi. Skoro svi slučajevi akutnog trovanja nikom izazvani su djelovanjem niklovog karbonila. Pri tome se javlja iritacija respiratornog trakta i nespecifični simptomi. Kod teškog trovanja, vidljiva je intenzivna plućna i gastrointestinalna toksičnost, a mogući su i smrtni ishodi. Zbog spomenute medicinske opasnosti niklovog karbonila razvijaju se lijekovi čiji su mehanizmi djelovanja kelacija nikla, kao što su: natrijev dietiditiokarbamat [187]. te dimetilglioksim [188].

Opasnost nikla za ljudsko zdravlje prvenstveno proizlazi iz stvaranja slobodnih radikala, kao što su superoksidni anion i ROS. Posljedični oksidativni stres izaziva genotoksičnost, kancerogenezu i imunotoksičnost [189]. Dodatni mehanizmi niklove toksičnosti uključuju kompeticiju s esencijalnim metalima metaloproteina ili vezanje na enzime i inhibiciju njihove aktivnosti [190]. Dokazano je da nikal izaziva različite patološke procese kod ljudi, kao što su: alergije, kardiovaskularne i bubrežne bolesti, fibroza pluća, rak pluća i nosa. Ovaj je metal povezan i s epigenetskim učincima kao što su hipermetilacija DNK i ubikvitinacija histona - ključnim mehanizmima kod inicijacije tumora, napredovanja raka i metastaza [185]. Stoga je redukcija nikla iz čovjekove okoline, prvenstveno iz poljoprivrednog tla, od velike važnosti. Pristupi

integrirane bioremedijacije pokazali su veliki potencijal u ovom smislu [191]. Nikal pokazuje i neke povoljne učinke na ljudsko zdravlje, neizravno, kroz stimulaciju mikrobiote u ljudskim crijevima [186,192]. Nadalje, nikal olakšava apsorpciju željeza i može imati važnu ulogu u proizvodnji eritrocita, te se u tom kontekstu svrstava u skupinu minerala u ultratragovima [193].

1.7.6 Olovo

Ljudi već tisućama godina intenzivno koriste olovo za razne primjene, a njegovi neurotoksični učinci prepoznati su još u Rimskom carstvu [194]. Hipokrat je opisao teški napadaj grčeva izazvan ovim elementom, a u drugom stoljeću pr. Kr. Nikandar je opisao odnos konstipacije, grčeva, bljedila i paralize s djelovanjem olova na tijelo. U moderno doba, potencijalni izvori izloženosti ovom metalu su njegove povišene razine u pitkoj vodi, korištenje olovnih spojeva u bojama i kozmetici te olovo oslobođeno izgaranjem goriva iz industrijskih i motornih vozila [195].

Olovo nije biorazgradivo, a nakon što se apsorbira u organizmima, nakuplja se u krvi, kostima, jetri, bubrezima, mozgu i koži. Kod ljudi su uočeni negativni učinci na reproduktivni, jetreni, endokrini, imunološki i gastrointestinalni sustav [196]. Pri vrlo visokim razinama olova u krvi, olovo je snažan abortiv. Već pri niskim razinama izaziva pobačaje i nisku porođajnu težinu novorođenčadi. Pri većim koncentracijama može izazvati akutnu encefalopatiju uz izražene simptome, kao što su: razdražljivost, uznemirenost, glavobolja, zbunjenost, ataksija, pospanost, konvulzija i koma [195].

Olovo posjeduje snažan afinitet prema sulfhidrilnim skupinama, kao i skupinama elektron donora, te se stoga čvrsto veže na različite proteine, uzrokujući višestruke štete proteomima pogođenih pojedinaca. Također, dvovalentni ion ovog metala interferira s hranjivim elementima, kao što su prvenstveno kalcij i cink, u različitim važnim mehanizmima, u kojima oni fiziološki sudjeluju. Olovo lako prolazi stanične membrane, izaziva redoks reakcije, potičući stvaranje ROS [197]. Stoga su toksični učinci olova prilično složeni i utječu na gotovo sve organe [198].

U odraslih može uzrokovati povišenje krvnog tlaka, usporiti živčane impulse ili izazvati: umor, promjene raspoloženja, pospanost, poremećaj koncentracije, neplodnost, smanjeni libido, glavobolje, zatvor, encefalopatiju ili čak uzrokovati smrt u teškim slučajevima [199]. Kronična izloženost u ranom djetinjstvu uzrokuje nepovoljne neurorazvojne posljedice, čak i pri niskim razinama [200]., a oštećenje više organa ili čak smrt u visokim dozama [201].

Sprječavanje izloženosti olovu opsežno je istraženo, s fokusom na smanjenje olova u hrani. Biološki pristupi, kao što je mikrobno potpomognuta fitoremedijacija tla, pokazali su značajan potencijal za takvu svrhu [202-204]. Osim spomenutog procesa, moguća je strategija detoksikacije olova konzumacijom zeolita klinoptilolita. Pokazalo se da klinoptilolit ima visok afinitet prema ovom elementu, posebice pri niskim vrijednostima pH [9].

1.7.7 Stroncij

Stroncij pripada skupini zemnoalkalijskih metala. Ne nalazi se u elementarnom obliku u prirodi, već je obično vezan s kisikom u stroncijev oksid. Iako ga neki znanstveni krugovi smatraju elementom u tragovima u ljudskom tijelu, nikada nije dokazano da je neophodan za život [205].

Stroncij ulazi u tijelo primarno kroz gastrointestinalni trakt, a također ga u manjoj mjeri apsorbiraju pluća i koža. Bubrezi eliminiraju većinu apsorbiranog elementa, dok se u znatno manjoj mjeri izlučuje putem fecesa i znoja. Budući da su bubrezi primarni izvor eliminacije stroncija, pacijenti s bubrežnom insuficijencijom imaju povećan rizik od nakupljanja ovog metala. Stroncij se prirodno nakuplja u mineraliziranim tkivima putem površinske izmjene ili mehanizama ionske supstitucije s kalcijem, pri čemu taloženje u kostima predstavlja 99% ukupne tjelesne opterećenosti ovim elementom [206].

Stroncij u biološkim sustavima često djeluje na način sličan kalciju, no u manjem obimu. Iz temeljnih medicinskih istraživanja vidljivo je da stroncij može zamijeniti kalcij u mnogim fiziološkim procesima, kao što su kontrakcija mišića ili zgrušavanje krvi. Čini se da se kalcij lakše transportira od stroncija, kod svakog aktivnog transporta kroz biološke membrane (gastrointestinalna apsorpcija, renalna ekskrecija, laktacija i prolaz kroz placentu). Za razliku od kalcija, stroncij nije homeostatski kontroliran u tijelu. Također stroncij pokazuje manju biološku aktivnost od kalcija, pa je tako i njegova toksičnost manje izražena [205].

Toksičnost stroncija je rijetko opisana u medicini, no poznato je da može uzrokovati sistemske učinke, kao što je razvoj teškog oblika osteoporoze. Nedavno je u literaturi opisan slučaj krajnjeg stadija tibiotalnog osteoartritisa uzrokovanog kroničnim trovanjem ovim elementom [207]. Pretjerano nakupljanje stroncija povezano je i s razvojem osteomalacije kod pacijenata na dijalizi. Koncentracije stroncija su također povišene u serumu bolesnika s uremijom, i to do 30 puta više nego u osoba s intaktnom bubrežnom funkcijom [206]. Jedina stabilna kemikalija, koja sadrži stroncij, a dokazano je štetna za ljudskog zdravlje u manjim količinama, je stroncijev kromat, čija toksičnost proizlazi iz kroma, koji je poznati genotoksični karcinogen [205].

Stroncij ima izvanredan osteogeni potencijal, budući da potiče stvaranje i inhibira resorpciju kostiju. Stoga se ugrađuje u razne ortopedske uređaje, za poboljšanje regeneracije kostiju, posebno kod pacijenata s osteoporozom, gdje poboljšava mineralnu gustoću kostiju [208-211]. Umjetni radioaktivni oblik stroncija (Sr 90) se u medicini koristi za liječenje raka kostiju [212].

2. HIPOTEZE I CILJEVI RADA

Glavni cilj ovog doktorskog istraživanja je bio provjeriti utjecaj tromjesečne oralne primjene visoke koncentracije PMA zeolita na sastav mineralnih makro- i mikro-nutrijenata, kao i njegove detoksikacijske učinke čišćenja organizma štakora od teških metala, te utvrditi:

- koncentracijski profil mineralnih makro- i mikro- nutrijenata (Mg, Mn, Ca, K, Na, Zn, Fe, Cu, Se i P) u krvi, serumu, mozgu, bubregu, jetri, femuru, tankom i debelom crijevu štakora, odnosno ispitati utjecaj PMA zeolita na njihov sastav,

- koncentracijski profil teških metala (Pb, Al, Sr, Cd, Co, Ni, As) u krvi, serumu, mozgu, bubregu, jetri, femuru, tankom i debelom crijevu štakora, odnosno ispitati detoksikacijsku učinkovitost PMA zeolita te utjecaj na njihovu homeostazu *in vivo*.

Hipoteze:

- Tromjesečna oralna primjena visoke koncentracije PMA zeolita utječe na sastav mineralnih makro- i mikro- nutrijenata u organima i tkivima štakora.
- Tromjesečna oralna primjena visoke koncentracije PMA zeolita utječe na koncentracijski profil teških metala u organima i tkivima štakora, pokazujući detoksikacijske učinke čišćenja organizma štakora od teških metala.

3. MATERIJALI I METODE

3.1 Eksperimentalne životinje

Eksperimentalni postupci provedeni su pri Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu. Ženke HsdBr/Han: Wistar štakora (200-220 g. tjelesne mase te starosne dobi 10 tjedana), uzgajane su i održavane u uvjetima bez patogena, u stabilnom mikrokruženju te hranjene standardnom GLP certificiranom laboratorijskom hranom - Mucedola 4RF21 (Mucedola, Settimo Milanese, Italija) i vodom iz slavine *ad libitum*. Svi štakori uzgajani su i držani u standardnim polikarbonatnim kavezima, na prostirci od procesiranih komadića drveta, po pet jedinki u skupini s ciljem osiguravanja stabilne socijalne strukture te umanjenja stresa. Uvjeti držanja životinja bili su kontrolirani: temperatura prostorije je iznosila $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, relativna vlažnost zraka $50 \pm 20\%$, uz svjetlosni režim 12 sati svjetla i 12 sati tame. Svi eksperimentalni postupci provedeni su sukladno preporukama i smjernicama suvremene prakse u radu s laboratorijskim glodavcima [213].

3.1.1 Pripravci zeolita

Klinoptilolitni pripravci proizvedeni su od strane Panaceo International GmbH (Villach/Gödersdorf, Austrija). Isti prirodni klinoptilolitni tuf korišten je u obliku tribomehanički aktiviranog zeolita (TMAZ), mljevenog primjenom standardne tribomehaničke mikronizacije i dvostruko tribomehanički aktiviranog zeolitnog klinoptilolita, obrađenog patentiranom proizvodnom metodom tribomehaničke mikronizacije (PMA-zeolit).

Patentirana tehnologija za dvostruku aktivaciju koristi višestruke sudare čestica pri velikim brzinama nastalima u vrtlozima između dva suprotno rotirajuća diska, na kojima je fiksirano po sedam kružnih redova lopatica. Rotirajući diskovi su raspoređeni tako da čestice uslijed djelovanja centrifugalne sile moraju proći kroz svih sedam kružnih redova lopatica. Brzina vrtnje lopatica je 145 m/s. Navedeni postupak aktivacije izvodi se dva uzastupna puta (engl. *double-activation*), pri čemu se povećava temperatura

čestica, kao i broj sudara među njima te se posljedično javljaju nova površinska svojstva detaljnije opisana u radu Kraljević Pavelić i sur., 2017. [24]. Među novim svojstvima najznačajnija su - povećanje specifične površine i poboljšanje ionske izmjene zeolitnog materijala. Detaljna fizikalno-kemijska svojstva te proces pripreve PMA-zeolita također su opisani u navedenom radu [24]. Koloidni silikat Ludox AS-40 proizveden je od strane Sigma-Aldrich chemicals Co. (St. Louis, MO, SAD).

3.1.2 Primjena pripravaka zeolita

Vodne suspenzije dvaju pripravaka klinoptilolita, svakodnevno su pripremane svježe, te su štakorima aplicirane pomoću intragastrične sonde u dozi od 8 g/kg tjelesne mase. Postupak intragastričnog sondiranja prikazan je na slici 11.



Slika 11. Prikaz rada s eksperimentalnim životinjama. a) laboratorijske životinje u polikarbonatnom kavezu, b) postupak umirivanja životinja prije sondiranja, c) slika

zeolitnog praha, korištenog u pokusu, d) sonda za intragastričnu aplikaciju, e) svježe pripremljena zeolitna suspenzija, f) postupak intragastričnog sondiranja (a-f; vlastite fotografije).

Primijenjena je doza zeolita od 8 g/kg tjelesne mase štakora, a tjelesna masa štakora je iznosila oko 220 g (oko $\frac{1}{4}$ kg). Kada se odvaganoj masi zeolitnog praha dodala voda, kako bi se pripremila suspenzija, sadržaj je navučen u brizgalicu i svakoj životinji se apliciralo 2 ml tako dobivene suspenzije.

Koloidni silicij (Ludox AS-40) primjenjivan je također dnevno, na način da je izračunom utvrđeno da 2 ml komercijalne otopine sadrži oko 2 g koloidnog silicija, što odgovara primijenjenoj dozi zeolita. Volumen bolusa za p.o. primjenu na taj način nije prelazio 10 ml/kg tjelesne mase. Temperatura sadržaja zagrijavana je u vodenoj kupelji te prilagođena tjelesnoj temperaturi životinje (37 °C). Životinje iz negativne kontrole primale su vodu, u odgovarajućem volumenu intragastričnom sondom. Eksperiment je trajao 12 tjedana, a Dnevnik rada je u prilogu ove disertacije (Prilog 1.).

S obzirom na dugotrajnu (tijekom 12 tjedana) primjenu relativno visokih doza (8 g/kg tjelesne mase štakora) zeolita, analizirane su dosadašnje literaturne spoznaje vezano uz odnos doze i odgovora, i to vezano uz biološke učinke zeolita, posebice PMA zeolita, na metabolizam metala s jedne strane, kao i eventualne toksične učinke s druge strane.

Tako smo utvrdili da se u dozi zeolita manjoj od 1 g/kg tjelesne mase štakora ne očekuju toksični učinci, ali su i biološki učinci na metabolizam metala minimalni ili ih uopće nema [214]. U rasponu doza od 1-10 g/kg tjelesne mase štakora (za PMA zeolite do 8 g/kg tjelesne mase štakora) opažene su blage nuspojave u obliku prolaznog blagog proljeva, bez znakova toksičnosti, uz istovremenu pojavu detoksikacijskih učinaka na metabolizam metala [9]. U rasponu doza od 10-20 g/kg tjelesne mase štakora opažene su nuspojave u obliku proljeva i letargije, ali uz nisku toksičnost, dok su učinci detoksikacije na metabolizam metala snažniji. Kod primjene doza većih od 30 g/kg tjelesne mase štakora opažene su teže nuspojave, ali još uvijek uz nisku toksičnost, dok se istovremeno postiže maksimalan detoksikacijski učinak na metabolizam metala [214].

Općenito, zeoliti pokazuju izrazito nisku toksičnost, uz zabilježene vrlo visoke LD50 vrijednosti (>16 g/kg tjelesne mase štakora) [214]. Ne primjećuju se smrtni ishodi ni pri vrlo visokim dozama, a tipične nuspojave su prolazni proljev i blaga letargija, ali bez dugoročnih posljedica. Istovremeno, biološki učinci detoksikacije na metabolizam metala se pojavljuju u dozama koje ne izazivaju toksičnost, uključujući i kod primjene PMA zeolita [41,215].

3.1.3 Skupine štakora

Zdrave ženke štakora, za potrebe eksperimenta, nasumično su raspoređene u četiri eksperimentalne skupine:

- a) Ž, 10 tj. (10 kom), negativna kontrola; ne-tretirane (voda),
- b) Ž, 10 tj. (10 kom), tretirane prirodnim jednostruko aktiviranim zeolitom (TMAZ),
- c) Ž, 10 tj. (10 kom), tretirane prirodnim dvostruko aktiviranim zeolitom (PMA-zeolit),
- d) Ž, 10 tj. (10 kom), tretirane koloidnim silikatom (Ludox AS-40).

3.2 Multielementalna analiza

3.2.1 Uzimanje uzoraka tkiva za kemijsku analizu

Po isteku razdoblja od 12 tjedana trajanja eksperimenta, ženke štakora anestetizirane su intraperitonealnom aplikacijom smjese Narketana (80 mg/kg tjelesne mase) i Xylapana (12 mg/kg tjelesne mase) (Chassot AG, Bern, Švicarska) i humano usmrćene iskrvarenjem uslijed presijecanja vratnih krvnih žila u općoj anesteziji. Uzorkovanje tkiva (krv, serum, bedrena kost, jetra, bubrezi, tanko i debelo crijevo i mozak) za analize izvedeno je *post mortem*. Pri uzorkovanju provedeno je i vaganje navedenih organa, pri čemu nije utvrđeno povećanje niti jednog od njih, što je prikazano u tablici u prilogu (Prilog 2.).

Sakupljeni biološki uzorci pripremljeni su kemijsko-fizikalnim metodama za kemijsku analizu – multielementalnu analizu metodom spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS).

3.2.2 Priprema uzoraka tkiva za kemijsku analizu

Neposredno prije provođenja multielementalne analize, uzorci štakorskih seruma razrijeđeni su alkalnom otopinom (0,7 mM amonijaka, 0,01 mM EDTA i 0,07 % (v/v) Tritona X-100) 20 puta (150 µL uzorka i 2,85 mL alkalne otopine). Uzorci štakorske krvi razrijeđeni su istom alkalnom otopinom kao i serumi, 70 puta (50 µL uzorka i 3,45 mL alkalne otopine). U sve uzorke seruma i krvi dodan je unutarnji standard (Ge, Rh, Tb, Lu i Ir) u koncentraciji od 3 µg/L.

Uzorci štakorskih tkiva pripremljeni su za multielementalnu analizu visokotlačnim mikrovalnim razaranjem, korištenjem metode za biološke uzorke. Uzorci tkiva prebačeni su iz polipropilenskih plastičnih epruveta, u kojima su bili zamrznuti na -20°C, u teflonske kivete, izvagani te im je dodano po 2 ml koncentrirane dušične kiseline (HNO₃ 65%, čistoće s.p.) (Merck, Darmstadt, Njemačka) i 2 ml deionizirane vode. Kivete su začepljene teflonskim čepovima, nakon čega su uzorci razoreni u visokotlačnom mikrovalnom uređaju UltraCLAVE IV (Milestone Srl., Bergamo, Italija) prema temperaturnom programu za biološke uzorke prikazanom u tablici 1.

Tablica 1. Temperaturni program za razaranje bioloških uzoraka u visokotlačnom mikrovalnom uređaju UltraCLAVE IV (Milestone, Italija).

	t (min:s)	E (W)	T₁ (°C)	p (bar)
1.	3:30	700	70	100
2.	15:00	1000	180	100
3.	10:00	1000	260	120
4.	30:00	1000	260	120
5.	40:00	0	30	20

Nakon razaranja i hlađenja, uzorci su prebačeni u polietilenske Falcon epruvete s poklopcem (Eppendorf, Hamburg, Njemačka) i nadopunjeni deioniziranom vodom na volumen od 25 mL te su tako čuvani do provođenja analize.

Neposredno prije analize elemenata uzorci su razrijeđeni s 1% HNO₃ (v/v) 50 puta (100 µL uzorka i 4,9 mL 1% HNO₃ (v/v)) te im je dodan unutarnji standard u koncentraciji od 3 µg/L.

3.2.3 Priprema standardnih otopina za multielementalnu analizu

Iz monoelementnih standardnih otopina (PlasmaCAL, SCP Science, Kanada) pripremljena je smjesa mineralnih makro i mikro nutrijenata te teških metala u 5% HNO₃ (v/v). Smjesa mineralnih makro i mikro nutrijenata te teških metala služila je za pripremu radnih standarda, korištenih za izradu kalibracijskih krivulja. Neposredno prije analize, pripremljeni su radni standardi u 1% HNO₃ (v/v) za mjerenje elemenata u razorenim uzorcima tkiva, dok su za analize elemenata u serumu i krvi radni standardi pripremani u alkalnoj otopini (0,7 mM amonijaka, 0,01 mM EDTA i 0,07 % (v/v) Tritona X-100). Otopinama radnih standarda, kao i uzorcima, dodan je unutarnji standard u koncentraciji od 3 µg/L.

3.2.4 Instrumentalni parametri za multielementalnu analizu

Koncentracija mineralnih makro i mikro nutrijenata te teških metala u štakorskoj krvi i serumu te u štakorskim tkivima provedena je u laboratoriju *Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam* metodom ICP-MS, uz korištenje uređaja Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Waldbronn, Njemačka) (slika 12).



Slika 12. Uređaj ICP-MS (vlastita fotografija).

Razdvajanje analita provedeno je tehnikom induktivno spregnute plazme, a kvantifikacija koncentracije pojedinih elemenata u uzorku provedena je korištenjem kalibracijske krivulje, usporedbom broja signala u uzorku s brojem signala u standardnim otopinama poznate koncentracije.

Mjerni parametri i osjetljivost instrumenta podešavaju se prije svake ICP-MS analize. Osjetljivost instrumenta podešava se pomoću otopine koja sadrži 1 µg/L elemenata litija (Li), magnezija (Mg), kobalta (Co), itrija (Y), cerija (Ce), talija (Tl) i selenija (Se). Kako bi se namjestila odgovarajuća osjetljivost prati se odziv detektora na masama 7 (Li), 89 (Y) i 205 (Tl), koje pokrivaju mjerno područje detektora u području niskih, srednjih i visokih masa te istovremeno i omjeri dvostruko nabijenih iona ($^{140}\text{Ce}^{2+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) i oksida elemenata ($^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^{+}/^{140}\text{Ce}^{+}$) u odnosu na jednostruko nabijene ione. Optimalni uvjeti predstavljaju zadovoljavajuću osjetljivost (variranjem napona na lećama, dubine unosa uzorka, protoka plina nosioca) uz minimalno nastajanje dvostruko nabijenih iona (<2,2 %) i iona oksida (<1,4 %) Tipični optimirani uvjeti za multielementalnu analizu metodom ICP-MS prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Tipični optimirani uvjeti rada uređaja ICP-MS Agilent 7500cx.

PARAMETAR		VRIJEDNOST		
RF Snaga	1550 W			
RF faktor	1,68 V			
udaljenost plamenika i konusa	7,8 mm			
horizontalna os plamenika	0 mm			
vertikalna os plamenika	-0,3 mm			
brzina peristaltičke pumpe	0,08 rps			
protok plazma plina	15 L/min			
protok plina za razrjeđenje	0,15 L/min			
protok plina nosioca	1,00 L/min			
raspršivač	MicroMist (kvarc)			
komora za raspršenje	Scott (kvarc), hladena na 2°C			
konusi od Ni, promjer otvora	1 mm <i>Sampling cone</i> ; 0,4 mm <i>Skimmer cone</i>			
dvostruko nabijeni ioni i oksidi	¹⁴⁰ Ce ²⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺ <2,2 % ; ¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺ <1,4 %			
kolizijski/reakcijski plin	bez plina	He	H ₂	
protok kolizijskog/reakcijskog plina	/	4 mL/min	4,2 mL/min	
napon na leći 1	0 V	2 V	0 V	
napon na leći 2	-145 V	-160 V	-160 V	
mjereni izotopi analita	²⁷ Al	²³ Na, ³¹ P, ⁴³ Ca, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ⁶³ Cu, ⁷⁵ As, ¹¹⁴ Cd, ²⁴ Mg, ³⁹ K, ⁵³ Cr, ⁵⁶ Fe, ⁶⁰ Ni, ⁶⁸ Zn, ⁸⁸ Sr, ²⁰⁸ Pb	⁵² Cr, ⁷⁸ Se	⁵⁴ Fe,

Za kontrolu točnosti i preciznosti metode ICP-MS, korišteni su komercijalno dostupni referentni materijali krvi *Recipe ClinChek® Whole blood lyophilized Level I, II, III* i *Seronorm™ Trace element Whole Blood Level I, II* (Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Njemačka) i seruma/ plazme (*Recipe ClinChek® Serum Control lyophilised Level I, II, Plasma Control lyophilised Level I, II* i *Seronorm™ Trace Elements Serum Level I, II*,) (Recipe Chemicals + Instruments GmbH, München, Njemačka) te kosti (BRM-IAEA-H5 *Animal Bone*) (IAEA, Beč, Austrija). Svi referentni materijali su rekonstituirani dodatkom ultračiste vode prema propisanom protokolu i korišteni su za potvrdu točnosti i preciznosti metode. Uzorak referentnog materijala za kost pripremljen je na isti način kao i biološki uzorci bedrene kosti.

3.3 Statistička obrada podataka

Statističke analize provedene su korištenjem standardizirane metodologije, u ovisnosti o normalnosti raspodjele podataka. Analizom normalnosti raspodjele podataka, utvrđeno je da su koncentracije pojedinačnih kemijskih elemenata po skupinama normalno distribuirane, stoga se upotrijebila aritmetička sredina kao mjera centralne tendencije i standardna devijacija kao mjera rasapa. U skladu s tim, primijenjen je odgovarajući parametrijski test, odnosno razlike u koncentracijama pojedinačnih elemenata između kontrolne i eksperimentalnih skupina analizirane su T-testom za nezavisne uzorke. Za razinu statističke značajnosti zaključivanja u svim analizama koristio se $p < 0,05$. Statistička analiza i vizualizacija provedena je korištenjem programskog paketa Statistica v 10.0 (StatSoft Inc, Tulsa, USA) i GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, SAD).

3.4 Etička pitanja

Protokol istraživanja na životinjama odobrilo je Etičko povjerenstvo Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb, Hrvatska (01-18/22-02-2/1 od 08.02.2022.). Svi postupci koji se izvode na životinjama odobreni su od strane Etičkog povjerenstva Ministarstva poljoprivrede i šumarstva Republike Hrvatske (UP/I322/01/22-01/25).

U predloženom istraživanju upotrijebljen je minimalan broj životinja, istovremeno dovoljan za vjerodostojnu statističku analizu (40 životinja ukupno/10 u svakoj skupini), sukladno Smjernicama Organizacije za ekonomsku suradnju i razvoj (engl. *Organisation for Economic Co-operation and Development/ OECD*) o načinu provedbe studija kronične izloženosti ispitivanom spoju (dostupno na: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>, pristupljeno 19.02.2023.).

Uvjeti u kojima su životinje boravile tijekom trajanja eksperimenta bili su u skladu s primjenjivim smjernicama u radu s laboratorijskim životinjama [216]. Mikrookoliš (temperatura zraka, osvjetljenje, relativna vlažnost zraka i buka) u kojem su životinje

boravile tijekom eksperimenta bio je u skladu sa standardnim operativnim postupcima pri radu u Jedinici za laboratorijske životinje Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu. Životni prostor životinja tijekom eksperimenta obogaćen je dodatnim sadržajima, kako bi ih se potaknulo da iskažu što veći raspon svog uobičajenog „prirodnog“ ponašanja. Pritom, pazilo se da se navedenim intervencijama ne ugrozi očekivani ishod istraživanja (korištene su kartonske kućice, tuneli te drveni blokovi za grickanje).

Intragastrična aplikacija ispitivanih pripravaka ne smatra se invazivnim postupkom, ali podrazumijeva poznavanje odgovarajućih tehnika obuzdavanja štakora, kako bi se umanjio rizik perforacije jednjaka ili aplikacije pripravaka intratrahealno. Za sam postupak aplikacije i umanjenje rizika nastanka opisanih neželjenih posljedica, od presudnog je značaja iskustvo osobe koja postupak provodi, stoga je postupak aplikacije provođen pod nadzorom osobe s dugogodišnjim iskustvom (po struci dr.med.vet.). Tretmani životinja ispitivanim pripravcima tijekom istraživanja bili su u potpunosti bezbolni, zbog čega se nisu koristile analgezija niti anestezija. Životinje su anestezirane tek i jedino prije usmrćivanja.

Po završetku eksperimenta, životinje su usmrćene u dubokoj anesteziji, nakon čega je uzorkovan biološki materijal neophodan za daljnje kemijske analize.

Osigurano je neškodljivo uklanjanje lešina životinja u skladu s Pravilnikom o nusproizvodima životinjskog podrijetla, koji nisu za prehranu ljudi (NN 87/09), prema ugovoru Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, 10000 Zagreb i Veterinarske ambulante Dugo Selo d.o.o., Veterinarska ulica 3, 10370 Dugo Selo.

Eksperiment nije predstavljao rizik za zdravlje drugih životinja, osoblja ili okoliša. Osobe uključene u projekt obučene su za rad s ispitivanim pripravcima te su rizici po osoblje, uz pravilnu uporabu osobnih zaštitnih sredstava, svedeni na najmanju moguću mjeru. Spremište hrane, opreme i otpada, kao i prostor za odlaganje lešina životinja i drugih životinjskih nusproizvoda, osiguran je unutar Jedinice za laboratorijske životinje u skladu s važećim propisima.

4. REZULTATI

4.1 Fiziološke značajke eksperimentalnih životinja

Prije početka provedbe protokola suplementacije prehrane štakora zeolitima, štakorima su uzeti biološki uzorci i izmjerene su vrijednosti razina makro- i mikro-nutrijenata te teških metala, kao mjera njihovih fizioloških koncentracija. Dobivene vrijednosti su prikazane u tablici 3.

Tablica 3. Fiziološke vrijednosti razina makro- i mikro- nutrijenata te teških metala određene iz seruma i organa štakora.

ORGAN	Ca	K	Mg	Na	P	Cu	Fe	Mn	Se	Zn
	mg/l	mg/kg	mg/l	mg/l	mg/l	µg/l	mg/l	µg/l	µg/l	µg/l
Serum	105,69	167,75 µg/l	23,86	3274,08	137,77	1660,9	8,02	2,55	382,24	1620,02
Mozak	185,89	4602,72	199	1270,21	3243,51	2888,26	19,68	444,85	121,54	14112,51
Femur	313003,38	2202,11	5747,96	7681,03	128332,22	877,26	62,28	570,47	108,55	215596,06
Jetra	39,43	4014,76	172,96	622,33	2666,46	5446,44	450,53	2855,95	1429,98	33970,6
Bubreg	88,51	2989,42	224,34	1689,43	2838,43	15719,06	99,54	977,9	1367,15	27243,05

ORGAN	Al	As	Cd	Co	Pb	Ni	Sr
	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
Serum	7,8	42,25	0,04	0,8	0,22	1,52	34,05
Mozak	247	55,27	0,1	4,31	1,6	10,07	72,65
Femur	952,41	151,66	0,74	215,72	17,74	537,25	49,5
Jetra	175,97	418,85	13,2	21,19	2,48	1,785	18,28
Bubreg	369,14	154,32	28,78	320,88	11,95	13,89	32,8

Koncentracije mjerenih elemenata u serumu izražene su u mg/l ili µg/l, a koncentracije mjerenih elemenata u organima izražene su u mg/kg ili µg/kg.

4.2 Makronutrijenti

Dugotrajna suplementacija prehrane ženki štakora aktiviranim oblicima klinoptilolita TMAZ i PMA-zeolita te komercijalnim koloidnim silikatom Ludox AS-40, izazvala je statistički značajne promjene mineralnog sastava makronutrijenata u njihovim tkivima i organima (tablica 4.).

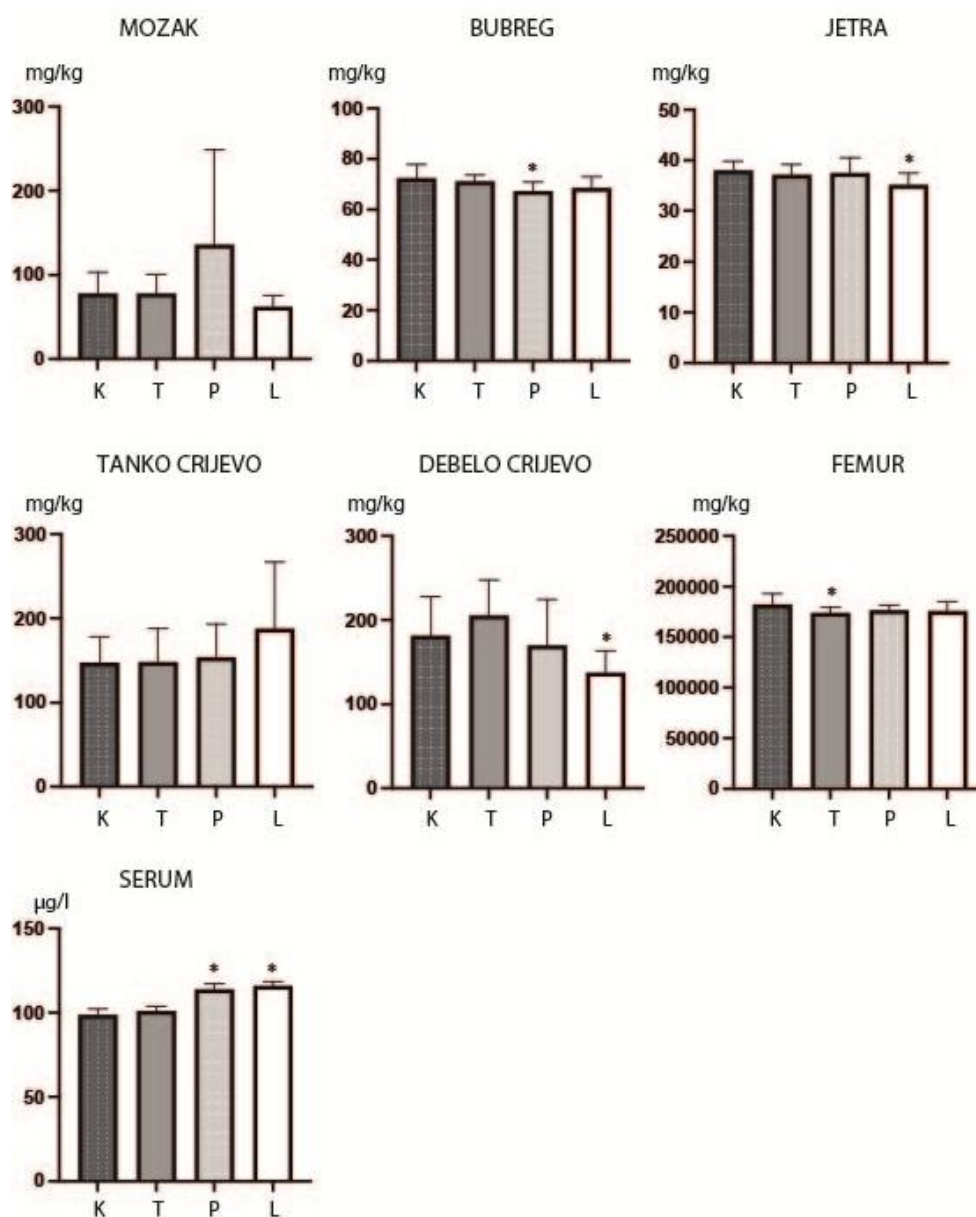
Tablica 4. Statistički značajne razlike u koncentraciji makronutrijenata u tkivima i organima štakora čija prehrana je suplementirana s TMAZ (T), PMA (P) i Ludox AS-40 (L), u usporedbi s kontrolnom skupinom, koja je umjesto suplementacije dobivala običnu vodu. Statistički značajno povišenje koncentracije u odnosu na kontrolnu skupinu je označeno zelenom bojom, dok je smanjenje koncentracije označeno crvenom bojom.

MAKRONUTRIJENTI															
	Ca			K			Mg			Na			P		
	T	P	L	T	P	L	T	P	L	T	P	L	T	P	L
MOZAK				↑			↑		↓		↓	↓			↓
BUBREG		↓													
JETRA			↓	↓	↓	↓			↓				↓	↓	↓
SERUM		↑	↑			↑				↑	↑	↑			↑
KRV															
FEMUR	↓				↓										
TANKO CR								↓	↓					↓	↓
DEBELO CR			↑	↑		↑	↑						↑		

Općenito, u uzorcima krvi nije uočena promjena koncentracije niti jednog analiziranog makronutrijenta. U femuru, tankom crijevu i jetri došlo je do smanjenja koncentracije pojedinih promatranih makronutrijenata, za razliku od seruma i debelog crijeva gdje je primijećen porast koncentracije makronutrijenata.

4.2.1 Kalcij

Koncentracije kalcija su se promijenile u bubrezima, jetri, serumu, femuru i debelom crijevu (slika 13.). Suplementacija prehrane TMAZ-om je prouzročila smanjenje koncentracije kalcija u femuru. PMA-zeolit je smanjio koncentracije kalcija u bubrezima, dok ih je povećao u serumu. Koloidni silikat Ludox AS-40 je inducirao povećanje koncentracije kalcija u serumu i debelom crijevu, a smanjenje u jetri.

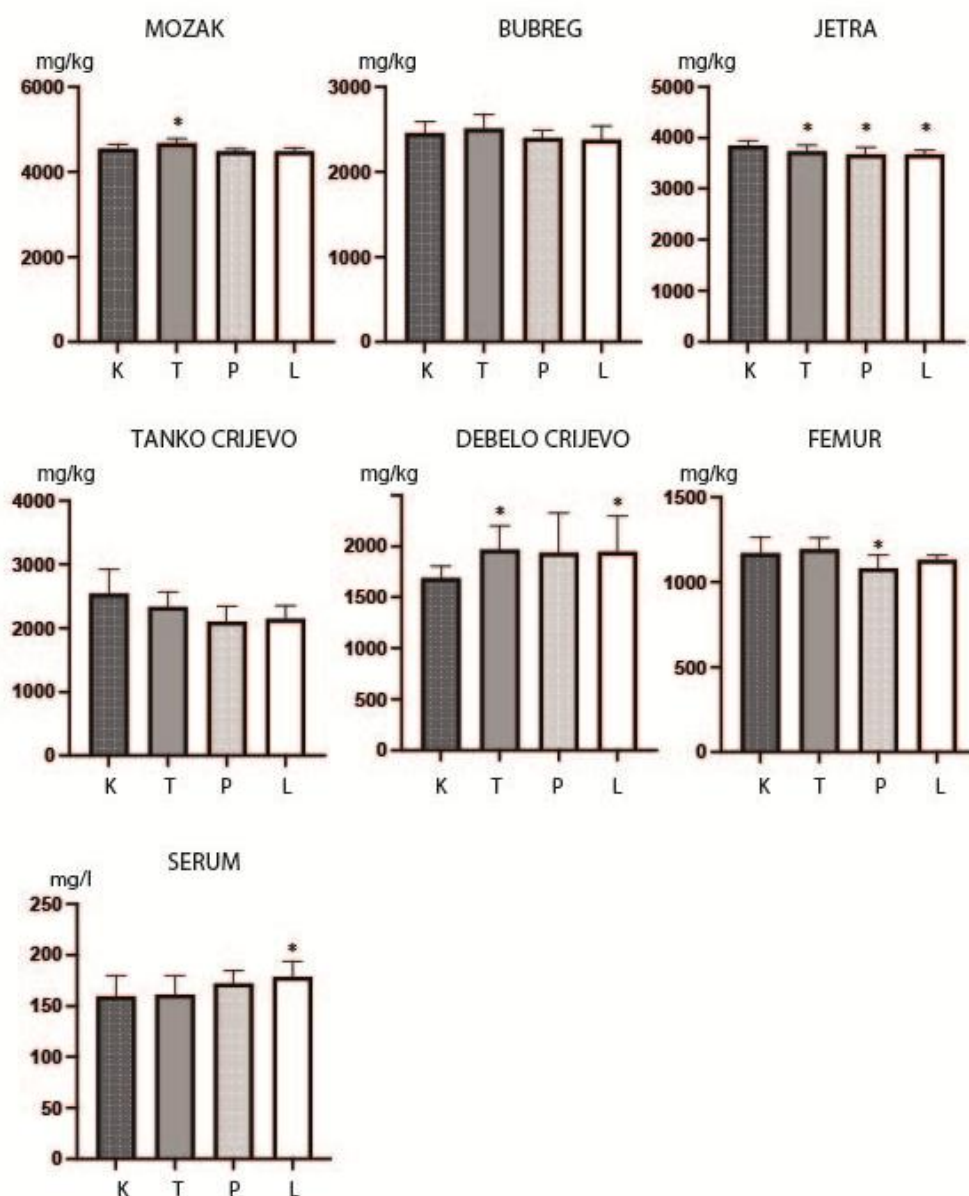


Slika 13. Koncentracije kalcija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.2.2 Kalij

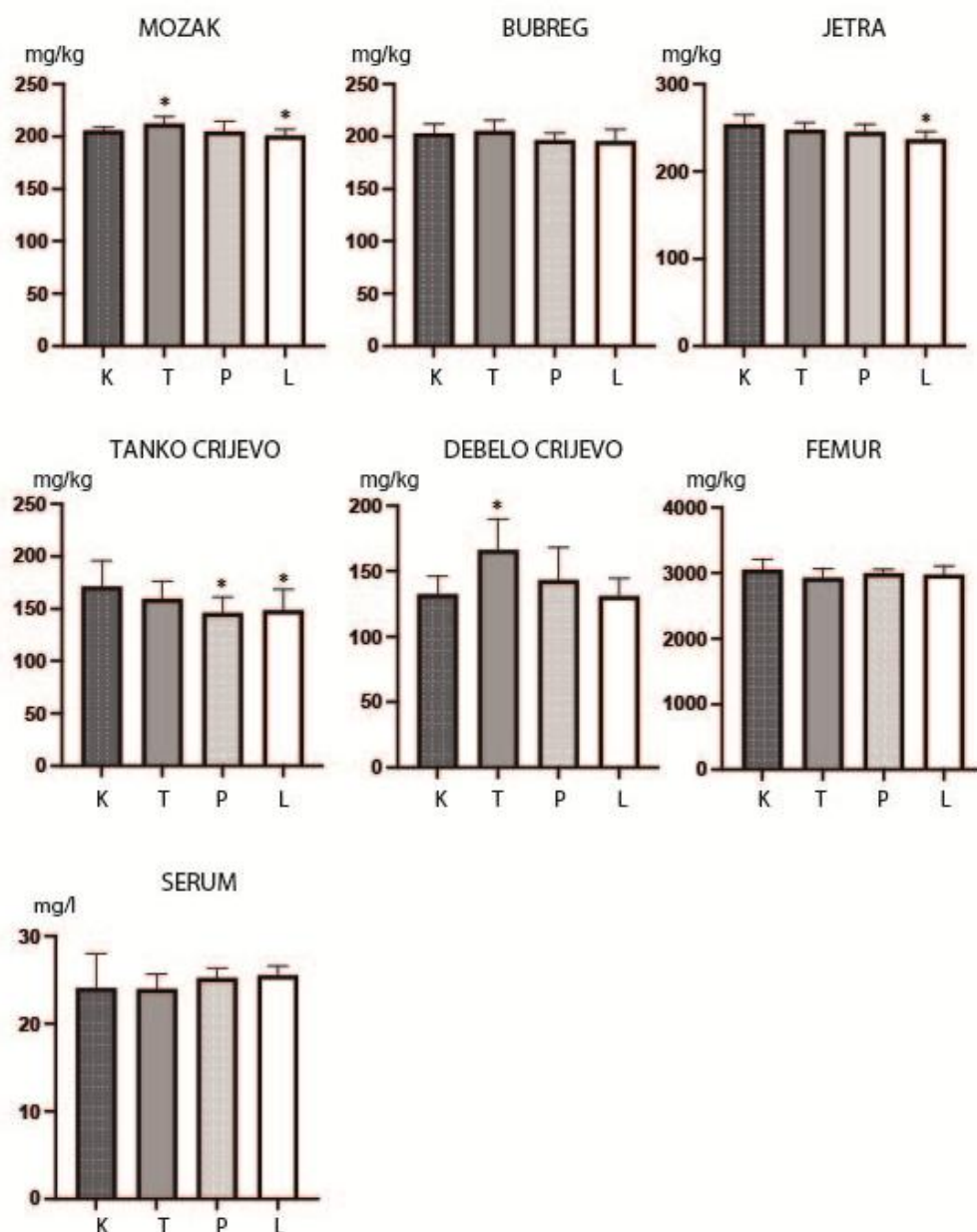
Koncentracije kalija promijenile su se u mozgu, jetri, serumu, femuru i debelom crijevu (slika 14.), dok je u mozgu i debelom crijevu ta promjena (povećanje) koncentracije bila popraćena istovremenim smanjenjem njegove koncentracije u jetri. Suplementacija prehrane dvostruko aktiviranim klinoptilolitom PMA-zeolitom je smanjila koncentraciju kalija u jetri i femuru. Ludox je također smanjio koncentraciju kalija u jetri, ali ju je povećao u serumu i debelom crijevu.



Slika 14. Koncentracije kalija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.2.3 Magnezij

Koncentracije magnezija promijenile su se u mozgu, jetri, tankom i debelom crijevu (slika 15.). PMA-zeolit je smanjio koncentraciju magnezija samo u tankom crijevu. Jednako tako, Ludox je, pak, doveo do smanjenja koncentracije magnezija u tankom crijevu, kao i u mozgu i u jetri.

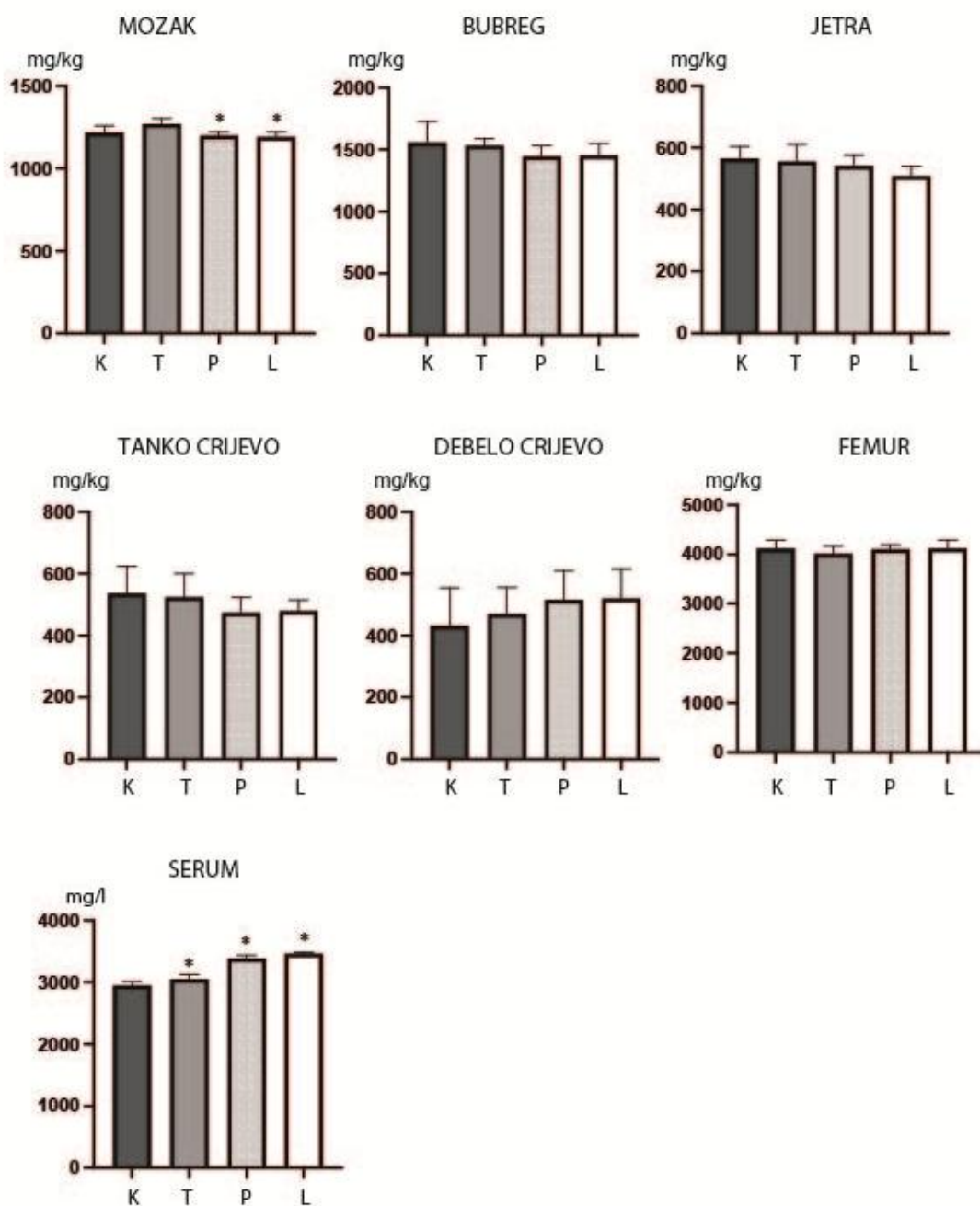


Slika 15. Koncentracije magnezija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit -

klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.2.4 Natrij

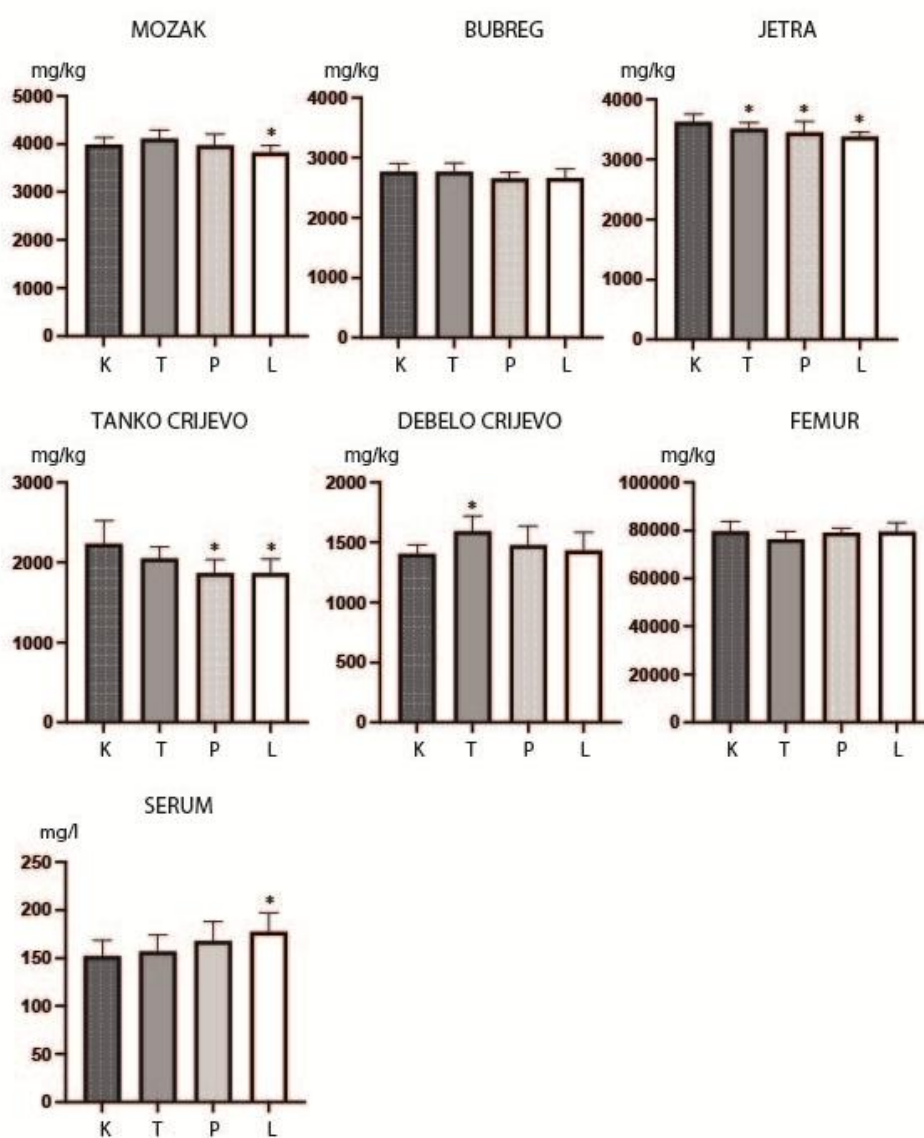
Koncentracije natrija promijenile su se u mozgu i serumu (slika 16.). Suplementacija prehrane TMAZ-om dovela je do povišenja koncentracije natrija u serumu, dok su PMA-zeolit i Ludox doveli do smanjenja koncentracije natrija u mozgu, uz istovremeno povećanje njegove koncentracije u serumu.



Slika 16. Koncentracije natrija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.2.5 Fosfor

Koncentracije fosfora promijenile su se u mozgu, jetri, serumu, tankom i debelom crijevu (slika 17.). Suplementacija prehrane TMAZ-om dovela je do smanjenja koncentracije fosfora u jetri, uz istovremeno povećanje njegove koncentracije u debelom crijevu. PMA-zeolit je smanjio koncentraciju fosfora u jetri i tankom crijevu. Istovjetne promjene izazvao je Ludox, koji je dodatno smanjio koncentraciju fosfora u mozgu, a povećao je u serumu.



Slika 17. Koncentracije fosfora u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.3 Mikronutrijenti

Dugotrajna suplementacija prehrane ženki štakora aktiviranim oblicima klinoptilolita TMAZ i PMA-zeolita te komercijalnim koloidnim silikatom Ludox AS-40, izazvala je statistički značajne promjene mineralnog sastava mikronutrijenata u njihovim tkivima i organima (tablica 5.).

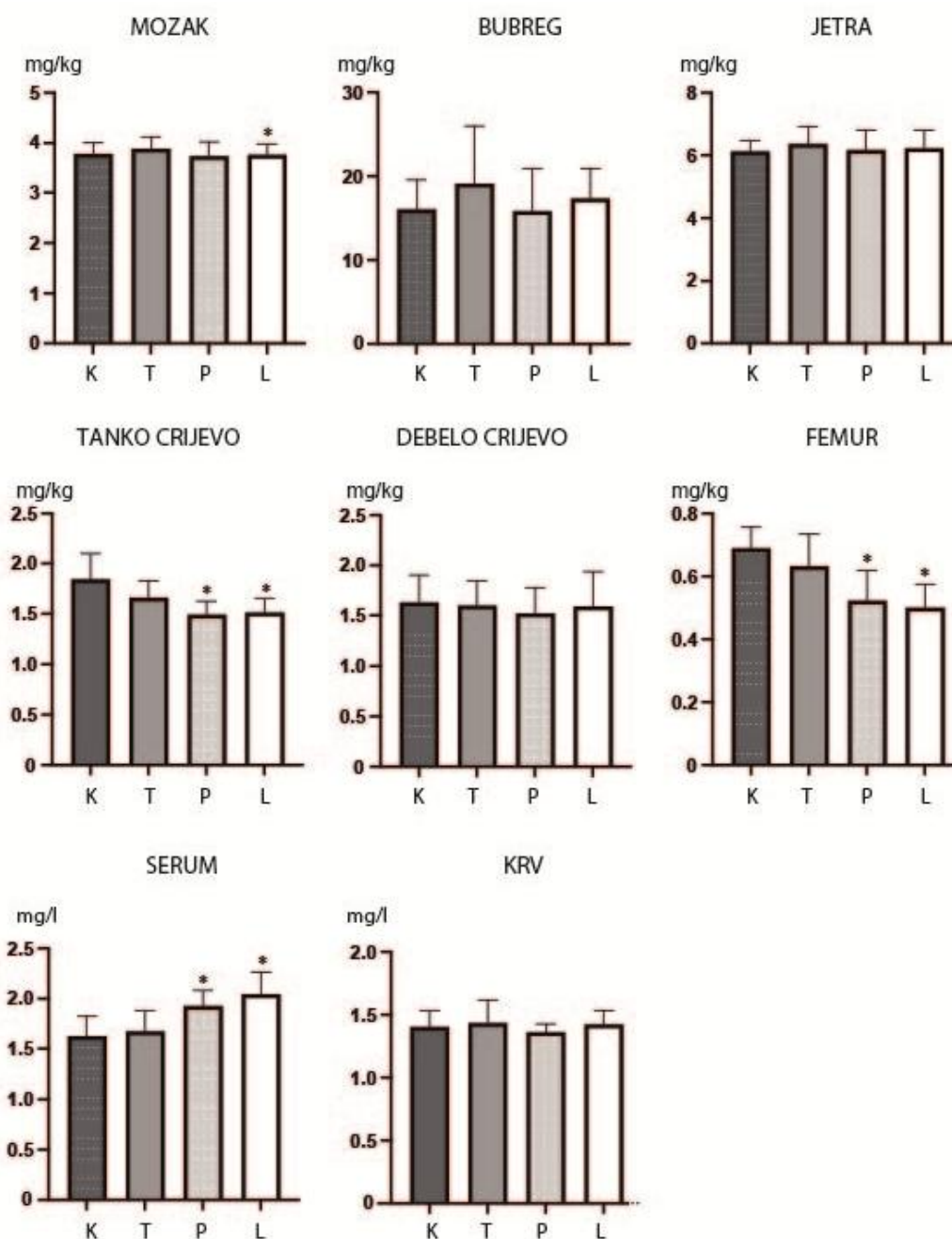
Tablica 5. Statistički značajne razlike u koncentraciji mikronutrijenata u tkivima i organima štakora čija prehrana je suplementirana sa TMAZ (T), PMA (P) i Ludox AS-40 (L), u usporedbi s kontrolnom skupinom, koja je umjesto suplementacije dobivala običnu vodu. Statistički značajno povišenje koncentracije u odnosu na kontrolnu skupinu je označeno zelenom bojom, dok je smanjenje koncentracije označeno crvenom bojom.

	MIKRONUTRIJENTI														
	Cu			Fe			Mn			Se			Zn		
	T	P	L	T	P	L	T	P	L	T	P	L	T	P	L
MOZAK				↑			↑						↑		
BUBREG										↓	↓				
JETRA							↑					↓			
SERUM		↑	↑		↑	↑					↑	↑			↑
KRV															
FEMUR		↓	↓												
TANKO CR		↓	↓	↓							↓	↓			↓
DEBELO CR										↑			↑		

Općenito, u uzorcima krvi nije uočena promjena koncentracije niti jednog analiziranog mikronutrijenta. U femuru i tankom crijevu došlo je do smanjenja koncentracije pojedinih promatranih mikronutrijenata, za razliku od seruma, debelog crijeva i mozga, gdje je primijećen porast koncentracije mikronutrijenata.

4.3.1 Bakar

Koncentracije bakra promijenile su se u serumu, femuru i tankom crijevu (slika 18.). Suplementacija prehrane TMAZ-om nije izazvala značajne promjene, a PMA-zeolit i Ludox povećali su koncentraciju bakra u serumu, uz istovremeno smanjenje koncentracije bakra u femuru i tankom crijevu.

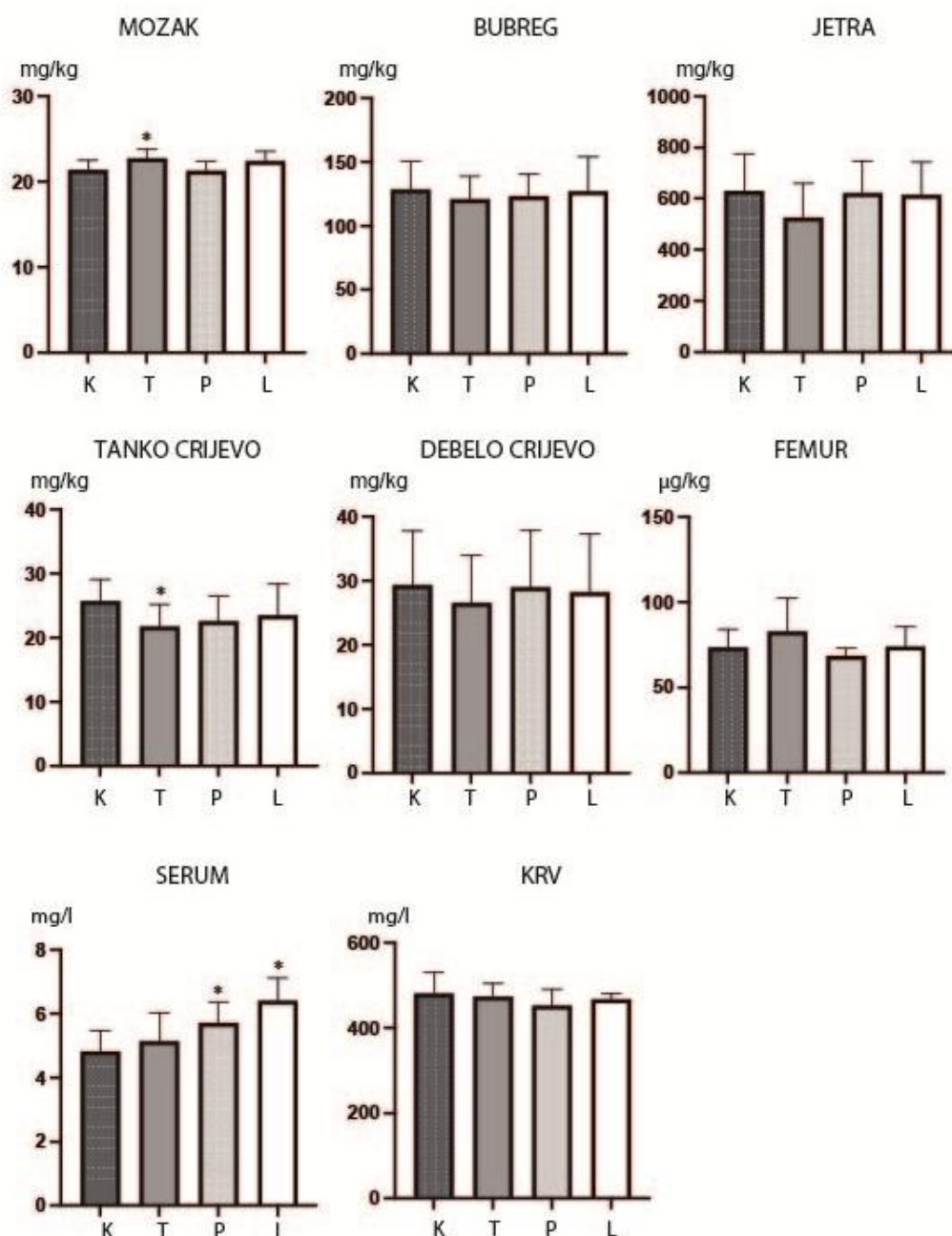


Slika 18. Koncentracije bakra u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.3.2 Željezo

Koncentracije željeza promijenile su se u mozgu, serumu i tankom crijevu (slika 19.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je povećanje koncentracije željeza u mozgu, uz smanjenje u tankom crijevu, a PMA-zeolit i Ludox povećali su koncentraciju željeza u serumu.

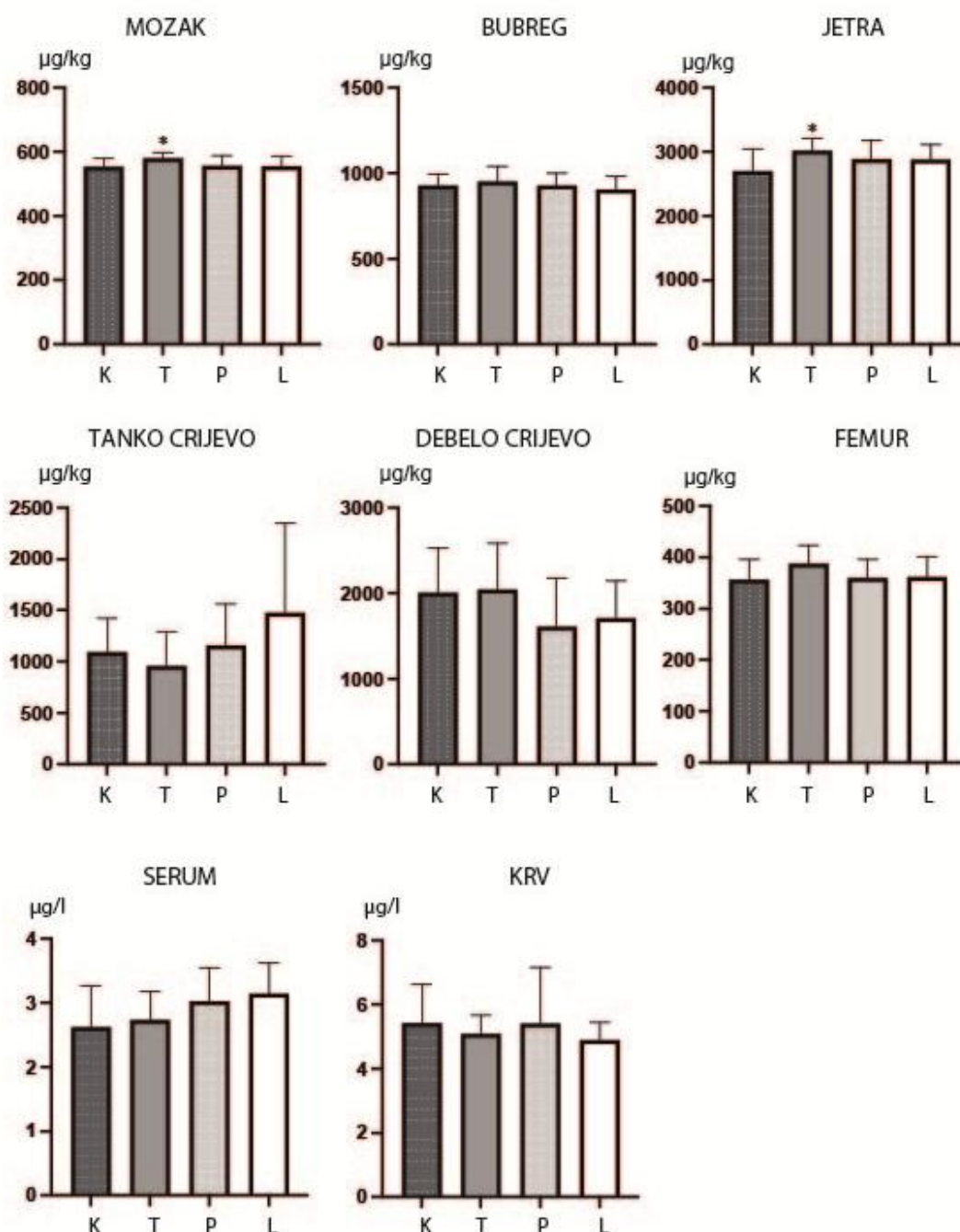


Slika 19. Koncentracije željeza u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.3.3 Mangan

Koncentracije mangana promijenile su se u mozgu i jetri (slika 20.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je povećanje koncentracije mangana u mozgu i jetri. PMA-zeolit i Ludox nisu izazvali nikakve promjene.

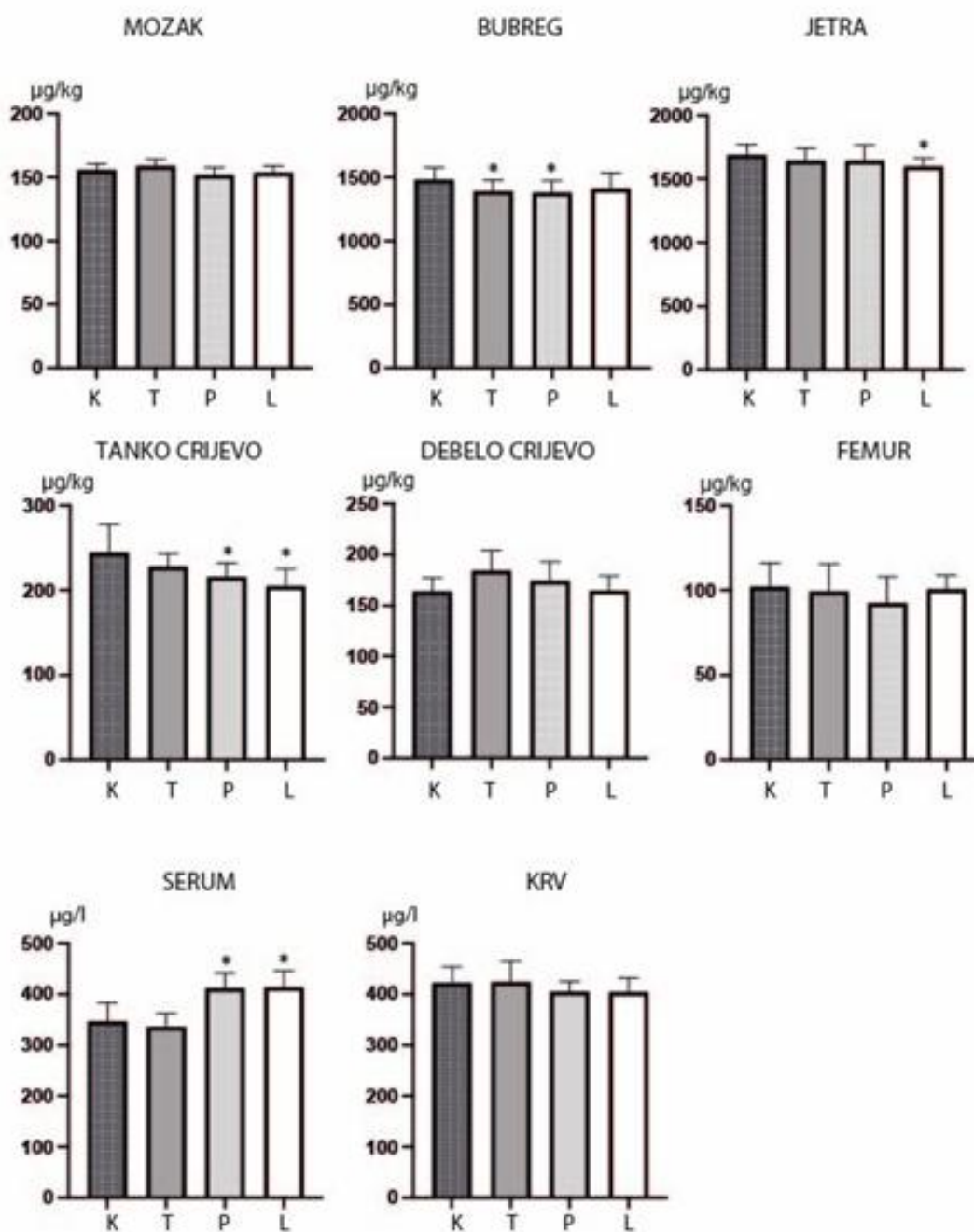


Slika 20. Koncentracije mangana u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.3.4 Selenij

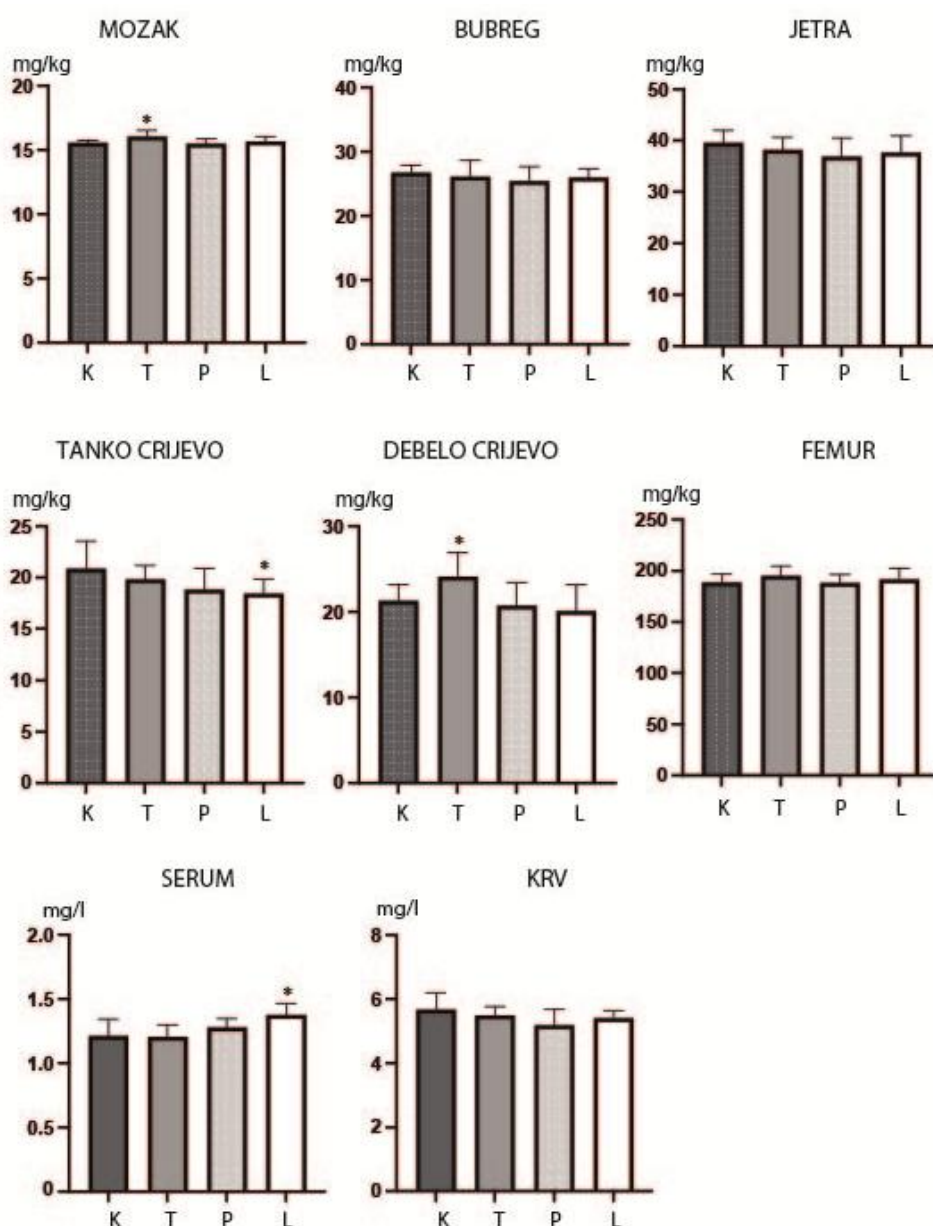
Koncentracije selenija promijenile su se u bubrezima, jetri, serumu i tankom crijevu (slika 21.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je smanjenje koncentracije selenija u bubrezima. PMA-zeolit je smanjio razinu selenija u bubrezima i tankom crijevu, a povećao ju je u serumu. Ludox je smanjio koncentraciju selenija u jetri i tankom crijevu, a povećao ju je u serumu.



Slika 21. Koncentracije selenija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.3.5 Cink

Koncentracije cinka promijenile su se u mozgu, serumu, tankom i debelom crijevu (slika 22.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je povećanje koncentracije cinka u mozgu i debelom crijevu. PMA-zeolit nije izazvao nikakve promjene u koncentraciji cinka, a Ludox je povećao koncentraciju cinka u serumu, uz njezino istovremeno smanjenje u tankom crijevu.



Slika 22. Koncentracije cinka u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4 Teški metali

Dugotrajna suplementacija prehrane ženki štakora aktiviranim oblicima klinoptilolita TMAZ i PMA-zeolita te komercijalnim koloidnim silikatom Ludox AS-40, izazvala je statistički značajne promjene mineralnog sastava teških metala u njihovim tkivima i organima (tablica 6.).

Tablica 6. Statistički značajne razlike u koncentraciji teških metala u tkivima i organima štakora čija prehrana je suplementirana sa TMAZ (T), PMA (P) i Ludox AS-40 (L), u usporedbi s kontrolnom skupinom, koja je umjesto suplementacije dobivala običnu vodu. Statistički značajno povišenje koncentracije u odnosu na kontrolnu skupinu je označeno zelenom bojom, dok je smanjenje koncentracije označeno crvenom bojom.

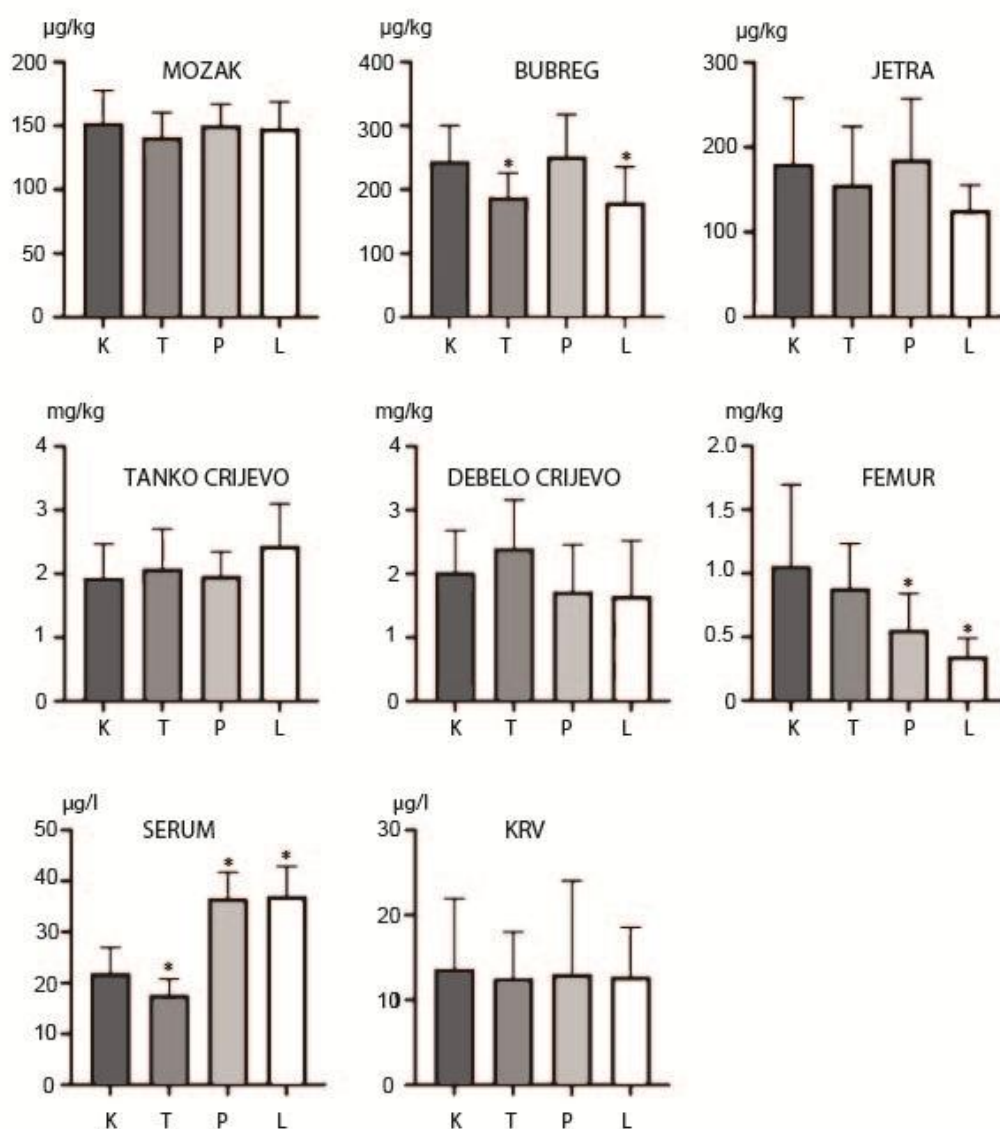
TEŠKI METALI												
	Al			As			Cd			Co		
	T	P	L	T	P	L	T	P	L	T	P	L
MOZAK												
BUBREG	↓		↓									
JETRA												
SERUM	↓	↑	↑		↑	↑		↓				
KRV												
FEMUR		↓	↓	↓								
TANKO CRIJEVO								↓				
DEBELO CRIJEVO												

	Ni			Pb			Sr		
	T	P	L	T	P	L	T	P	L
MOZAK									
BUBREG		↓			↑				
JETRA					↑				
SERUM		↑	↑				↑	↑	↑
KRV		↓	↓	↓			↑		↓
FEMUR	↑	↑	↑			↓			
TANKO CRIJEVO									
DEBELO CRIJEVO					↓				↓

Općenito, većina značajnih promjena u koncentracijama teških metala uočena je u serumu, dok u mozgu nije bilo značajnijih promjena. U bubregu, femuru te tankom i debelom crijevu uočeno je većinom smanjenje koncentracija analiziranih teških metala.

4.4.1 Aluminij

Koncentracije aluminija promijenile su se u bubregu, serumu i femuru (slika 23.). Suplementacija prehrane TMAZ-om smanjila je koncentraciju aluminija u bubregu i serumu. Oba aktivirana oblika klinoptilolita i Ludox su pokazali sličan učinak na koncentracijski profil aluminija, na način da su zeoliti povisili koncentraciju aluminija u serumu uz istovremeno smanjenje njegovih razina u uzorcima femura, a Ludox je također smanjio koncentraciju aluminija u bubregu.

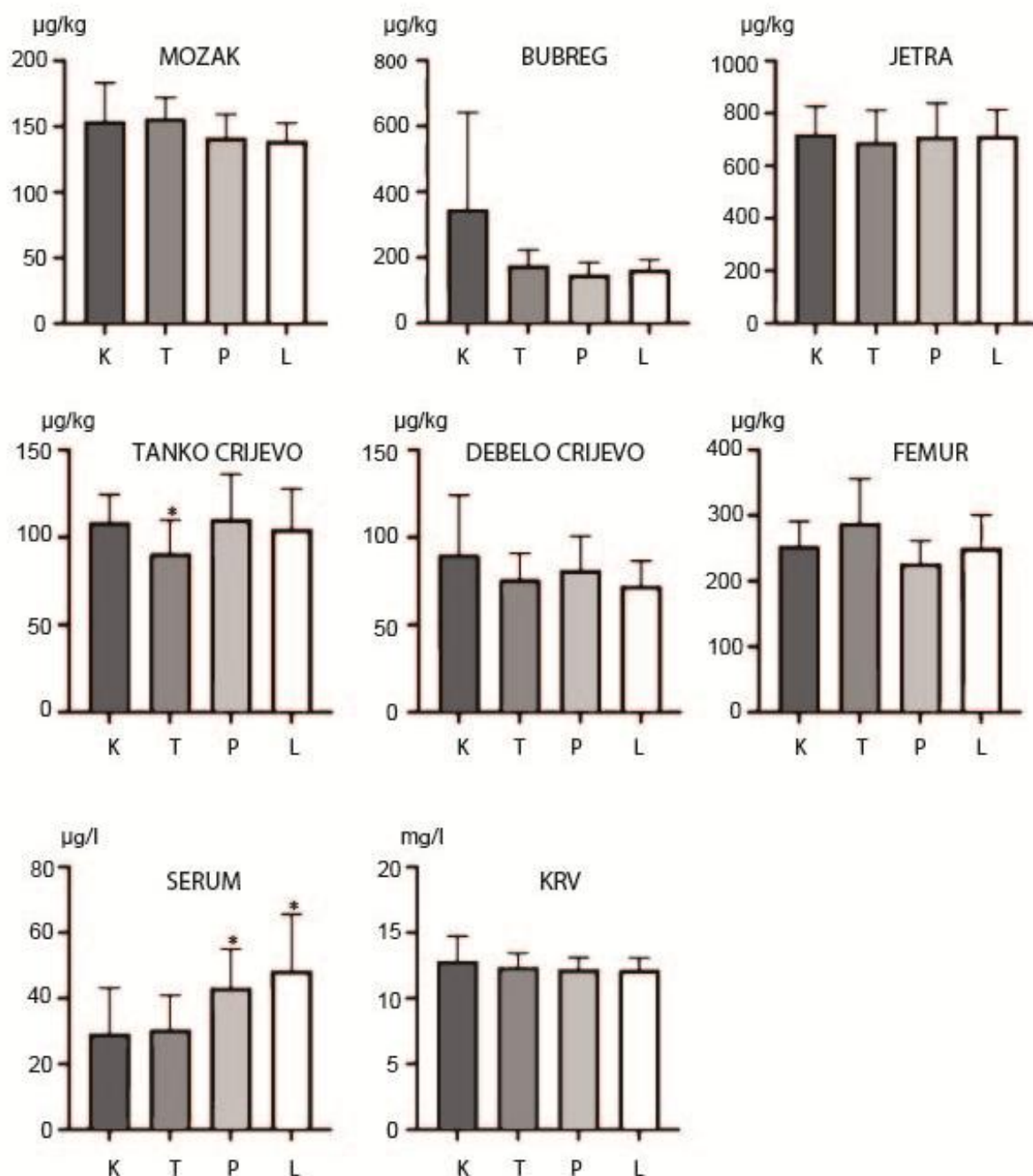


Slika 23. Koncentracije aluminija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.2 Arsen

Koncentracije arsena promijenile su se u tankom crijevu i serumu (slika 24.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je smanjenje koncentracija arsena u tankom crijevu, dok su PMA-zeolit i Ludox povisili koncentracije arsena u serumu.

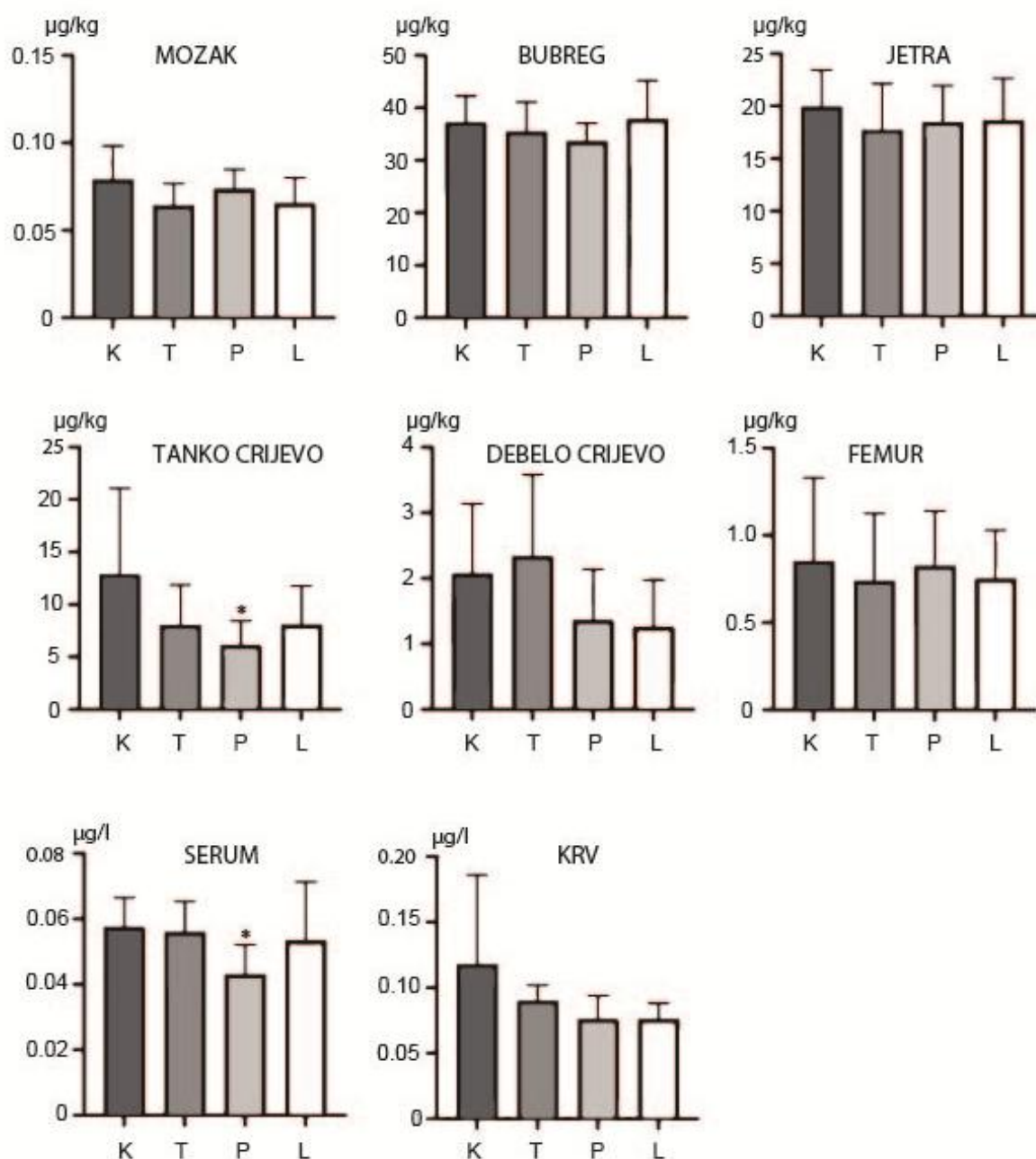


Slika 24. Koncentracije arsena u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P -

eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.3 Kadmij

Općenito gledajući, koncentracije kadmija u ovom istraživanju su doživjele samo manje statistički značajne promijene u organima i tkivima štakora (slika 25.). Suplementacija prehrane PMA-zeolitom je smanjila koncentraciju kadmija u tankom crijevu i serumu.

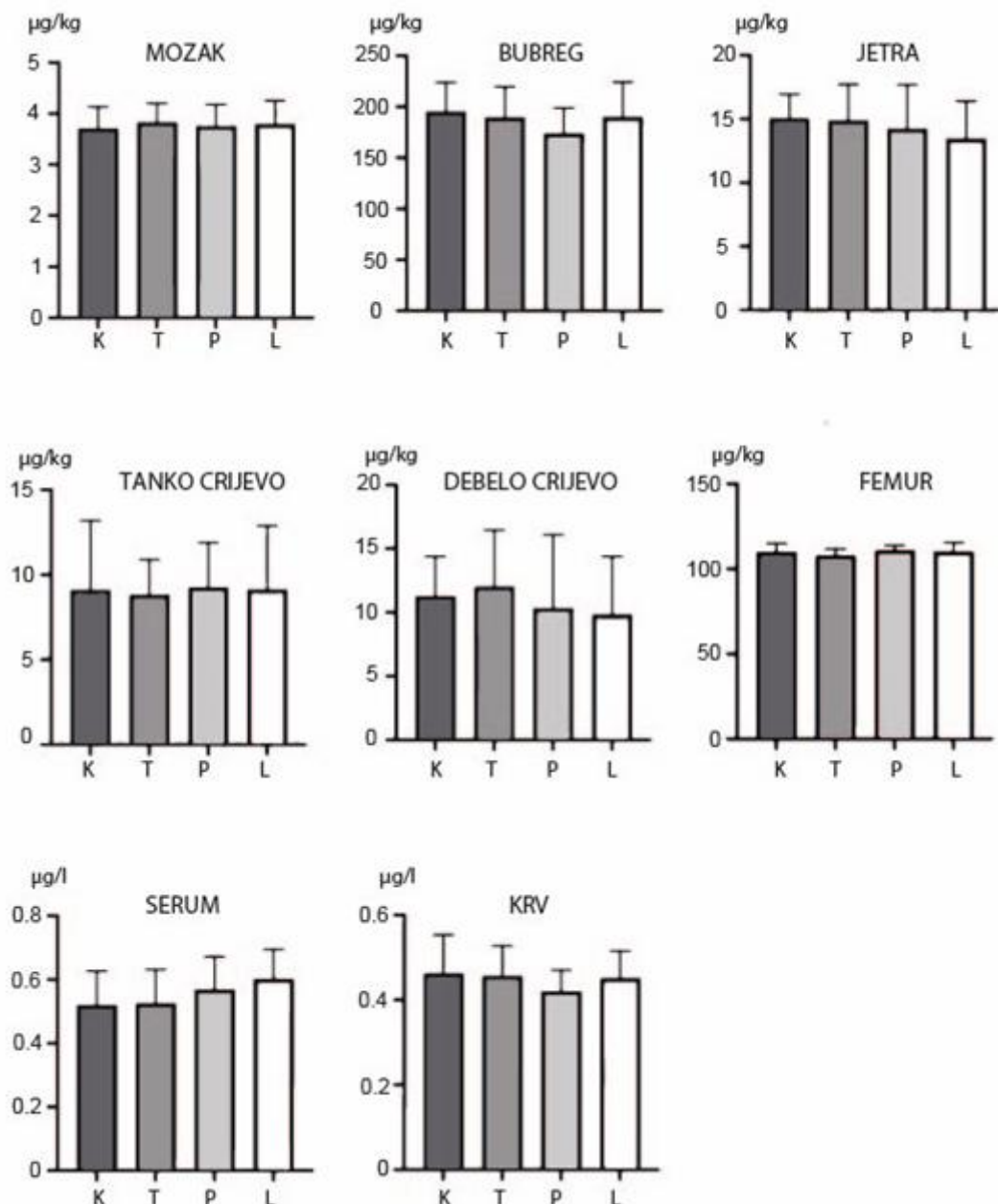


Slika 25. Koncentracije kadmija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit -

klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.4 Kobalt

Koncentracije kobalta u ovom istraživanju nisu doživjele statistički značajne promijene u organima i tkivima štakora (slika 26.).

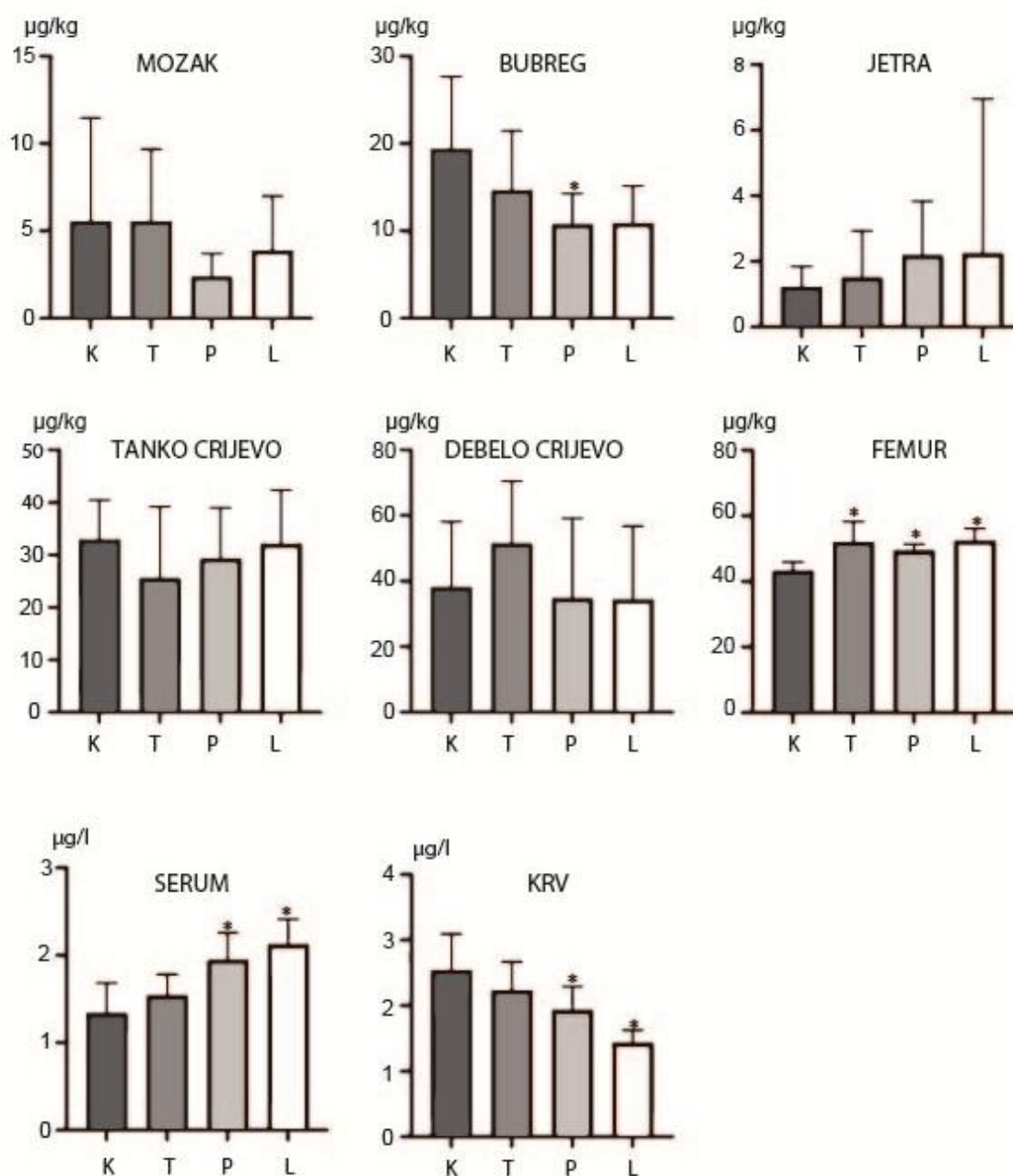


Slika 26. Koncentracije kobalta u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit -

klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.5 Nikal

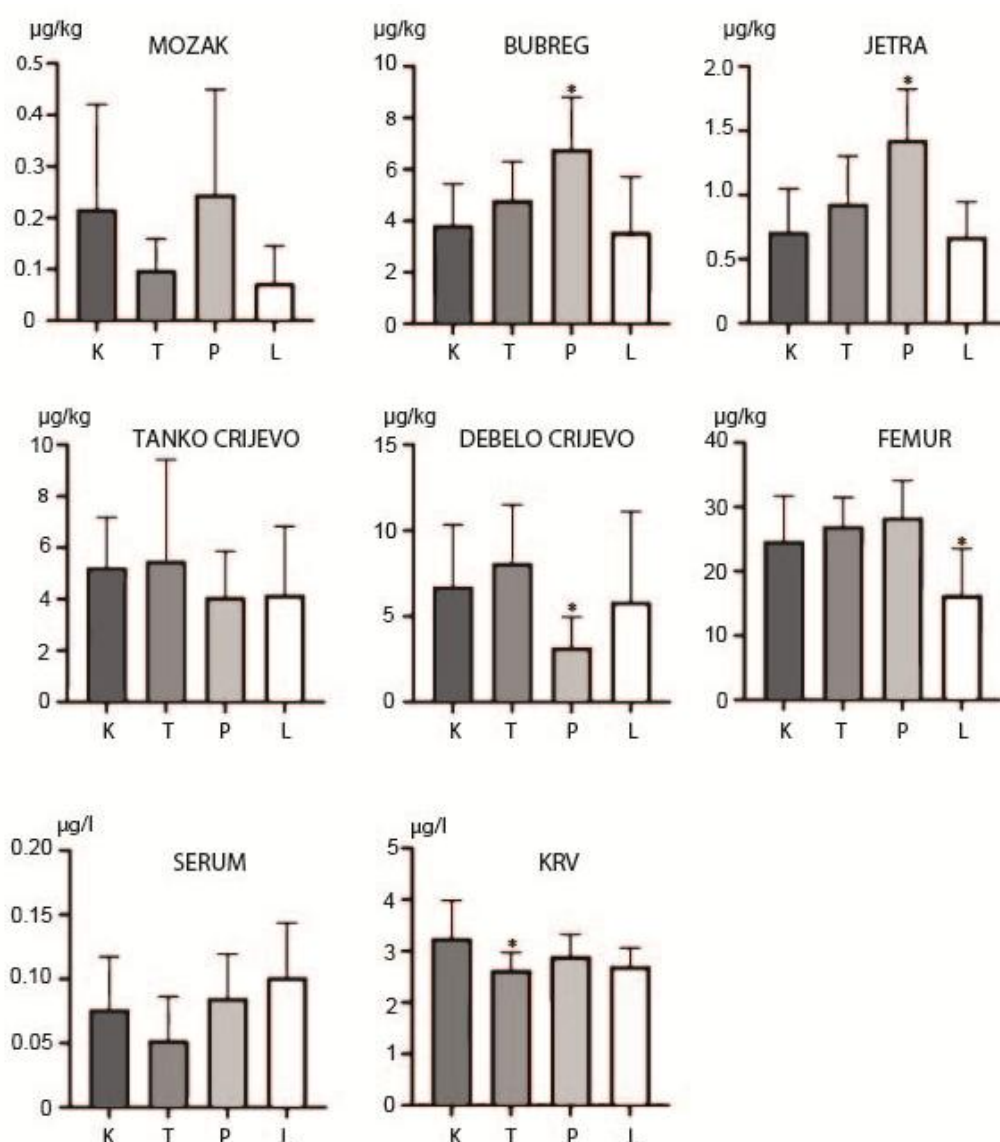
Među analiziranim teškim metalima, nikal je jedini pokazao povišene koncentracije u uzorcima femura, što je uočeno u sve tri pokusne skupine (slika 27.). Suplementacija prehrane PMA-zeolitom je smanjila koncentracije nikla u bubregu i krvi, a povišila njegovu koncentraciju u serumu. Sniženje koncentracije nikla u krvi, a povišenje u serumu, također je vidljivo i nakon suplementacije prehrane Ludoxom.



Slika 27. Koncentracije nikla u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.6 Olovo

Koncentracije olova promijenile su se u bubregu, jetri, debelom crijevu i krvi, nakon suplementacije prehrane zeolitima i Ludoxom (slika 28.). Suplementacija prehrane TMAZ-om smanjila je koncentraciju olova u krvi, dok je PMA-zeolit povisio njegovu koncentraciju u bubregu i jetri, uz istovremeno smanjenje koncentracije u debelom crijevu. Ludox je izazvao smanjenje koncentracije olova u uzorcima femura.

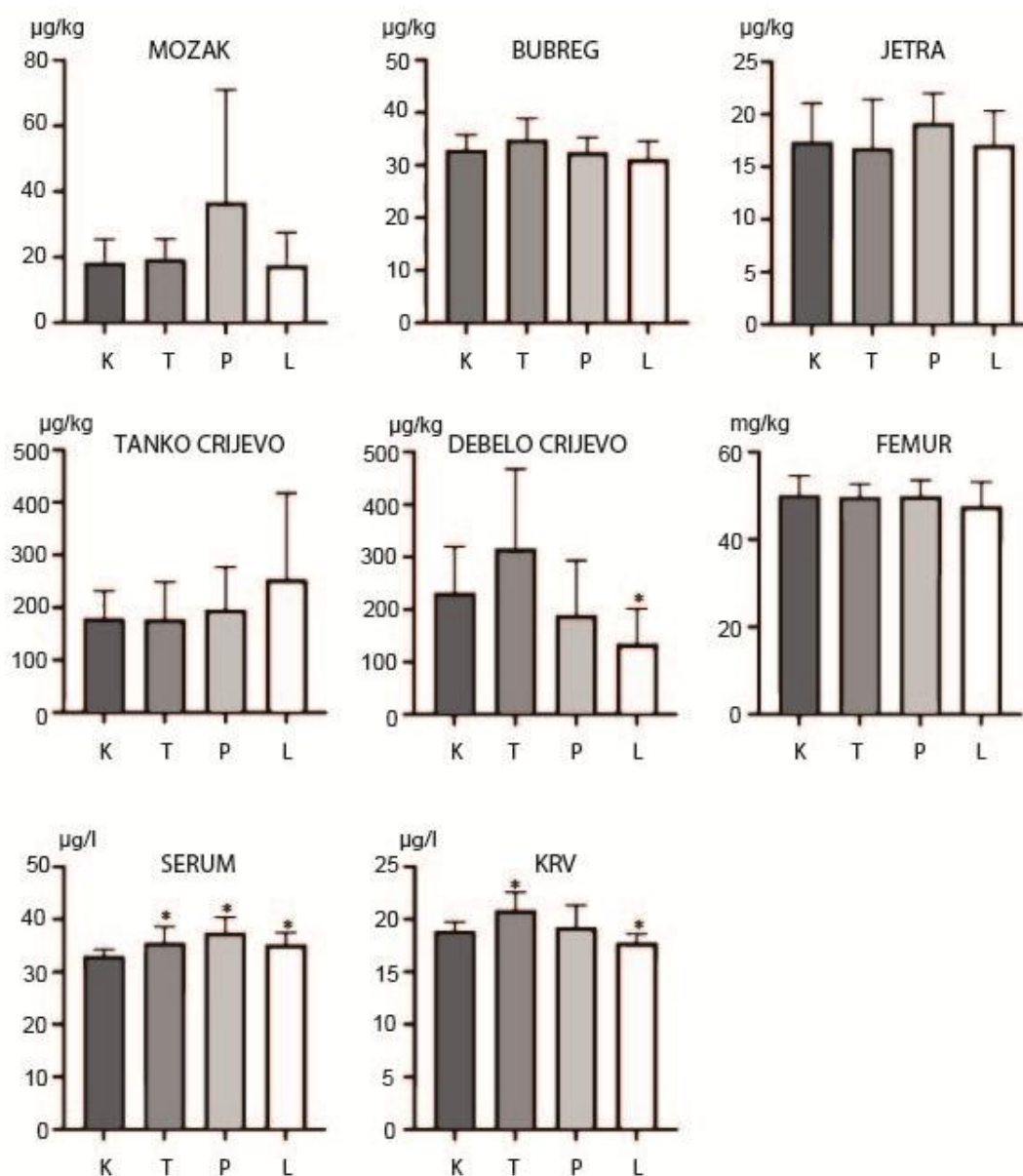


Slika 28. Koncentracije olova u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P -

eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

4.4.7 Stroncij

Koncentracije stroncija promijenile su se u debelom crijevu, serumu i krvi (slika 29.). Suplementacija prehrane TMAZ-om izazvala je povišenje koncentracije stroncija u krvi i serumu. Povišenje koncentracije stroncija u krvi vidljivo je i u preostale dvije eksperimentalne skupine, dok je Ludox smanjio koncentraciju stroncija u debelom crijevu i krvi.



Slika 29. Koncentracije stroncija u organima i tkivima štakora nakon tromjesečne suplementacije prehrane zeolitima. K - kontrolna skupina; T - eksperimentalna skupina

koja je primala prirodni tribomehanički aktivirani zeolit -klinoptilolit (TMAZ); P - eksperimentalna skupina koja je primala dvostruko tribomehanički aktivirani zeolit - klinoptilolit (PMA-zeolit); L - eksperimentalna skupina koja je primala koloidni silikat Ludox AS-40. Zvezdicom (*) su označene statistički značajne razlike u usporedbi ispitivanih skupina s kontrolnom, uz razinu statističke značajnosti $p < 0,05$.

5. RASPRAVA

Zeoliti se sve češće smatraju učinkovitim sredstvom u tretiranju toksikološkog opterećenja metalnim polutantima. Zbog svojih unikatnih fizikalno-kemijskih karakteristika, među kojima su svakako najznačajnija ionska izmjena i adsorpcijska svojstva, zeoliti posjeduju izvanredno moćnu sposobnost dekontaminacije i smanjenja metalnog preopterećenja kako za industrijske svrhe, tako i za detoksikaciju živih organizama.

Prvo korištenje zeolita klinoptilolita za dekontaminaciju bilo je prije više od trideset godina [217,218]. Od tada, ovaj prirodni zeolit je pokazao jak afinitet za mnoge metalne polutante u brojnim studijama [9,217,218,219], te je ekstenzivno korišten za eliminaciju Al, Pb, Cd, Sr, Co, Ni, Mg i Cr iz opterećenih sustava.

Osim u industrijske svrhe, klinoptilolit se sve više koristi i u veterinarskoj i ljudskoj medicini, gdje se pokazao kao siguran, inertan i otporan na metabolizam [19]. Nadalje, dokumentirani su brojni medicinski korisni *in vivo* učinci klinoptilolita, kao što su: antioksidativno, hemostatičko, antidijaroičko, imunomodulirajuće i detoksikacijsko djelovanje [220].

U nekoliko kliničkih studija se pokazalo da aktivirani klinoptilolit PMA-zeolit ne otpušta metale izravno u krvotok, već da su uočene fluktuacije razina metala u krvi posljedica detoksikacijskog procesa i oslobađanja iz raznih tjelesnih odjeljaka [221]. Jedan od najvažnijih mehanizama, koji potiču ove biološke učinke, je povlačenje metalnih iona u kristalnu rešetku zeolita.

Pavelić i sur., u svom radu iz 2018. godine, također ukazuju da u štakora i drugih sisavaca dugotrajna suplementacija prehrane klinoptilolitom ne povećava koncentracije njegovih sastavnih elemenata (kao što su primjerice aluminij i olovo) u krvi, kao što niti ne iscrpljuje esencijalne elektrolite ili elemente u tragovima, fiziološki prisutne i potrebne u organizmu [222]. Umjesto toga, djelovanje se manifestira postupnim uklanjanjem toksičnih tvari kroz probavni trakt, ponekad praćeno

privremenim povišenjima razine koncentracija u krvi, koja odražavaju njihovu sustavnu redistribuciju između tjelesnih odjeljaka, prije izlučivanja. Ovaj dinamički proces odgovara kinetičkom obrascu zapaženom u našem istraživanju, i zaključku da se takve privremeno povišene koncentracije metala u krvi ne smiju pogrešno protumačiti kao toksičnost, već upravo kao biomarkeri uspješne detoksikacije.

Istovremeno, naši rezultati ukazuju da, dugotrajna suplementacija prehrane štakora klinoptilolitom, ne utječe negativno na koncentracije važnih makro- i mikro- nutrijenata, kao što su magnezij, mangan, kalcij, kalij, natrij, cink, željezo, bakar, selen i fosfor, u organizmu štakora. Ovo naše opažanje sukladno je rezultatima drugih autora, koji u svojim istraživanjima nisu zabilježili smanjenje ili poremećaj razina koncentracija ovih esencijalnih elemenata uslijed primjene klinoptilolita, što potvrđuje njegovu sigurnost u kontekstu minerala važnih za metabolizam i homeostazu.

Pavelić i sur., u svom prethodno spomenutom radu iz 2018. godine, u odnosu na sigurnost klinoptilolita, ističu kako taj mineral čak može posredno doprinijeti poboljšanju antioksidativnih mehanizama u organizmu, djelomično putem otpuštanja fiziološki relevantnih kationa, poput kalcija, mangana, cinka i magnezija, tijekom izmjene iona, bez ometanja regulacije ovih elemenata [222].

Slično našim rezultatima, Kraljević Pavelić i sur. u svojoj studiji iz 2022. godine, navode da se kod dugotrajnih kliničkih ispitivanja u ljudi nije zabilježio značajan poremećaj u ravnoteži makro i mikroelemenata, a promjene koje su primijećene za Na i Ca pripisuju se procesima remodeliranja kostiju, a ne toksičnom djelovanju zeolita [221].

Papaioannou i sur. su, u svojoj studiji iz 2002. godine, također pokazali da se koncentracije elemenata, poput kalija, natrija, kalcija, željeza, cinka i bakra, nisu negativno mijenjale kod životinja, čija prehrana je bila suplementirana klinoptilolitom, što dodatno potvrđuje njegovu sigurnost za esencijalne minerale i vitamine u prehrani [223].

Nadalje, važno je istaknuti i da zeolitna struktura klinoptilolita neutralizira slobodne radikale, na način da ih zarobi unutar svoje kompleksne strukture, što dovodi do njihove biološke inaktivacije [220]. Ovo je važno posebice zbog činjenice da

mehanizam toksičnog djelovanja metala ovisi o masivnoj indukciji slobodnih radikala i pokretanju oksidativnog stresa.

U modelima oksidativnog stresa ili ozljede organa, a ne samo toksične izloženosti metalima, klinoptilolit također pokazuje zaštitne i detoksikacijske učinke. Saribeyoglu i sur., u svojoj studiji iz 2011. godine, istraživali su štakore nakon djelomične hepatektomije, modela jakog oksidativnog stresa, te su ustanovili da su životinje hranjene klinoptilolitom imale značajno nižu razinu malondialdehida (marker lipidne peroksidacije) i povećanu aktivnost antioksidativnih enzima (poput superoksid dismutaze i glutathion peroksidaze). Takvi su nalazi ukazivali na to da, osim izravnog vezanja metala, klinoptilolit može neizravno modulirati oksidativnu ravnotežu [33].

Zeolit je prirodni klinoptilolit i u svojoj strukturi sadrži mnoštvo elemenata, uključujući i metale, stoga je izuzetno važna stroga kontrola njihovog sastava prije bilo kakve *in vivo* aplikacije [9].

Rezultati našeg istraživanja, vezano uz koncentracije aluminija, su u skladu prethodno uočene sposobnosti PMA-zeolita da eliminira aluminij iz tijela [24]. Razina koncentracije ovog elementa u femuru ženki štakora, čija prehrana je suplementirana PMA-zeolitom, se statistički značajno smanjila. Istovremeno je došlo do statistički značajnog povišenja razine koncentracije aluminija u serumu, vjerojatno kao posljedica remodeliranja kosti. Istovjetan učinak je uočen u pilot studiji na pacijentima oboljelim od sindroma iritabilnog crijeva [224].

Proces remodeliranja kosti nakon tretmana PMA-zeolitom je već opisan *in vivo*, a dijelom je uzrokovan otpuštanjem silikonskih vrsta iz klinoptilolitnog materijala u krv [225]. Navedeno je u skladu s našim rezultatima na ženkama štakora tretiranim Ludox-om.

U studiji iz 2023., Celikbaş i sur. pokazali su da lokalna primjena prirodnog klinoptilolita poboljšava cijeljenje kostiju kod štakora, ubrzavajući fazu stvaranja kostiju i potičući rano osteogeničnu aktivnost. Iako nije izravno mjereno vezanje metala, autori pretpostavljaju da bi detoksikacija lokalnog okruženja i oslobađanje biogenog silicija i stroncija mogli doprinijeti remodeliranju kosti. Što je u skladu s našim opažanjima, gdje

je mobilizacija Pb i Al iz bedrene kosti i smanjenje metalnog opterećenja u kostima povezano sa stimulacijom obnove kostiju, što sugerira da kontrolirana primjena klinoptilolita može pozitivno utjecati na kvalitetu kosti spojem detoksikacije i modulacije minerala [226].

Prema literaturnim navodima, temeljem aktivacije procesa remodeliranja kosti i jakog afiniteta klinoptilolita spram olova, možemo pretpostaviti da je detoksikacija ovog metala iz kosti potaknuta suplementacijom prehrane ženki štakora PMA-zeolitom. Ovaj je proces obično jako spor i može trajati godinama [227].

U našem istraživanju smo također uočili povišene razine koncentracija olova u bubregu i jetri, kod ženki štakora, čija prehrana je suplementirana TMAZ zeolitom, no ove promjene nisu bile statistički značajne. Ovo povišenje razine koncentracija olova je bilo očekivano, i to stoga što bubreg i jetra predstavljaju dva ključna detoksikacijska puta za olovo. U debelom crijevu je razina koncentracije olova bila značajno smanjena kod ženki štakora, čija prehrana je suplementirana PMA-zeolitom. Sličan, no slabiji učinak, uočen je kod ženki štakora, čija prehrana je suplementirana TMAZ zeolitom, što je vrlo vjerojatno uzrokovano manjom veličinom čestica i većom aktivnom površinom PMA-zeolita [3]. Važno je pri tome istaknuti i činjenicu da su štakori koprofazi [228] te da, temeljem te spoznaje, serumsko olovo u našoj studiji može dijelom potjecati, kako iz koštanih depozita, tako i iz probavljenog fecesa. Ovo posebice stoga što suplementacija prehrane klinoptilolitom smanjuje crijevnu apsorpciju i koncentraciju olova u tkivima, budući da zeolit djeluje prvenstveno u probavnom traktu, vežući teške metale prije njihove ponovne apsorpcije i potičući njihovu izlučivanje stolicom.

Nadalje, PMA-zeolit statistički je značajno smanjio razinu koncentracija kadmija u serumu i tankom crijevu, kao i razinu koncentracije nikla u bubregu. Valja primijetiti da je činjenica da je PMA-zeolit povišio razine koncentracija nikla u femuru, no to povišenje nije premašilo očekivane fiziološke razine kod ženki štakora [229].

U kontekstu prethodno spomenutog procesa remodeliranja kosti koji se događa kod životinja i ljudi čija je prehrana suplementirana klinoptilolitom [41], navedeni učinak možda korelira s anaboličkim učinkom zeolita na koštano tkivo, kao što je to slučaj kod cinka i kobalta [230].

Razine koncentracija arsena u femuru su smanjene samo u ženki štakora, čija prehrana je suplementirana TMAZ zeolitom. Izgleda da brzina uočenih učinaka eliminacije metala iz tjelesnih odjeljaka korelira s fizikalno-kemijskim karakteristikama materijala. U kliničkoj studiji za bolest Morbus Crohn je prethodno pokazano da PMA-zeolit značajno smanjuje razinu koncentracije arsena kod ljudi, nakon 12-tjednog korištenja [221].

Razine koncentracija stroncija su se povisile u serumu životinja čija prehrana je suplementirana obama aktiviranim oblicima klinoptilolita i Ludox-OM. Ovo može ukazivati na povezanost pojačanog unosa stroncija sa silicijem u crijevima, uslijed oslobađanja otopljenih silikatnih vrsta iz spomenutih zeolita. Nedavno je uočeno da se stroncij i silicij sinergistički oslobađaju iz biokeramičkih hidrogelova, pri čemu dolazi do stimulacije stanične proliferacije i osteogene diferencijacije [231,232]. Svakako da su potrebna daljnja in vivo istraživanja ovog fenomena.

6. ZAKLJUČCI

1. Tromjesečna oralna primjena visoke koncentracije PMA zeolita utječe na sastav mineralnih makro- i mikro- nutrijenata (Mg, Mn, Ca, K, Na, Zn, Fe, Cu, Se i P) u organima i tkivima (krvi, serumu, mozgu, bubregu, jetri, femuru, tankom i debelom crijevu) štakora.
2. Tromjesečna oralna primjena visoke koncentracije PMA zeolita utječe na koncentracijski profil teških metala (Pb, Al, Sr, Cd, Co, Ni, As) u organima i tkivima (krvi, serumu, mozgu, bubregu, jetri, femuru, tankom i debelom crijevu) štakora.
3. Dugotrajna suplementacija prehrane ženki štakora velikim dozama PMA-zeolita nema negativni utjecaj na njihov sastav mikro- i makro- nutrijenata.
4. Dugotrajna suplementacija prehrane ženki štakora velikim dozama PMA-zeolita potiče detoksikaciju, čišćenjem teških metala iz organizma ženki štakora.
5. Zamijećeno je smanjenje koncentracije teških metala u bubrezima, femuru, tankom i debelom crijevu, istovremeno s povećanjem njihove koncentracije u serumu, što je indikativno za proces detoksikacije.

6. POPIS LITERATURE

01. Masters AF, Maschmeyer T. Zeolites – From curiosity to cornerstone. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2011;142(2):423-38.
02. Bogdanov B, Georgiev D, Angelova K, Yaneva K. Natural Zeolites: Clinoptilolite Review. International Science Conference. Stara Zagora. 2009.
03. Smith JV. Definition of a zeolite. *Zeolites*. 1984;4(4):309-10.
04. Weitkamp J. Zeolites and catalysis. *Solid State Ionics*. 2000;131(1):175-88.
05. Eroglu N, Emekci M, Athanassiou CG. Applications of natural zeolites on agriculture and food production. *J Sci Food Agric*. 2017;97(11):3487-99.
06. Baerlocher C, McCusker LB, Olson DH. Atlas of zeolite framework types: Elsevier; 2007.
07. Colella C. Recent advances in natural zeolite applications based on external surface interaction with cations and molecules. In: Xu R, Gao Z, Chen J, Yan W, editors. *Studies in Surface Science and Catalysis*. 170: Elsevier; 2007. p. 2063-73.
08. Breck DW, Breck DW. Zeolite Molecular Sieves: Structure, Chemistry, and Use: Wiley; 1973.
09. Kraljević Pavelić S, Simović Medica J, Gumbarević D, Filošević A, Pržulj N, Pavelić K. Critical Review on Zeolite Clinoptilolite Safety and Medical Applications in vivo. *Front Pharmacol*. 2018;9:1350.
10. Bacakova L, Vandrovcova M, Kopova I, Jirka I. Applications of zeolites in biotechnology and medicine - a review. *Biomater Sci*. 2018;6(5):974-89.
11. Mumpton FA. La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(7):3463-70.
12. Prodingier S, Derewinski MA. 3 - Synthetic zeolites and their characterization. In: Liu J, Ding F, editors. *Nanoporous Materials for Molecule Separation and Conversion*: Elsevier; 2020. p. 65-88.
13. Noh JH, Boles JR. Diagenetic Alteration of Perlite in the Guryongpo Area, Republic of Korea. *Clays and Clay Minerals*. 1989;37(1):47-58.
14. Hay RL, Sheppard RA. 6. Occurrence of Zeolites in Sedimentary Rocks: An Overview. In: David LB, Douglas WM, editors. *Natural Zeolites*. Berlin, Boston: De Gruyter; 2018. p. 217-34.

15. Colella C. Ion exchange equilibria in zeolite minerals. *Mineralium Deposita*. 1996;31(6):554-62.
16. Fanta FT, Dubale AA, Bebizuh DF, Atlabachew M. Copper doped zeolite composite for antimicrobial activity and heavy metal removal from waste water. *BMC Chem*. 2019;13(1):44.
17. Pavelic K, Hadzija M. Medical applications of zeolites. *Handbook of Zeolite Science and Technology* New York: Dekker. 2003:1143-74.
18. Laurino C, Palmieri B. ZEOLITE: "THE MAGIC STONE"; MAIN NUTRITIONAL, ENVIRONMENTAL, EXPERIMENTAL AND CLINICAL FIELDS OF APPLICATION. *Nutr Hosp*. 2015;32(2):573-81.
19. Mastinu A, Kumar A, Maccarinelli G, Bonini SA, Premoli M, Aria F, et al. Zeolite Clinoptilolite: Therapeutic Virtues of an Ancient Mineral. *Molecules*. 2019;24(8).
20. Sumaria V, Govindasamy G. Comparison between template assisted and OSDA-free synthesis of ZSM-12 and Zeolite Beta 2014.
21. Fruijtier-Pöllöth C. The safety of synthetic zeolites used in detergents. *Arch Toxicol*. 2009;83(1):23-35.
22. Přech J, Pizarro P, Serrano DP, Čejka J. From 3D to 2D zeolite catalytic materials. *Chem Soc Rev*. 2018;47(22):8263-306.
23. Mumpton FA, Fishman PH. The Application of Natural Zeolites in Animal Science and Aquaculture. *Journal of Animal Science*. 1977;45(5):1188-203.
24. Kraljević Pavelić S, Micek V, Filošević A, Gumbarević D, Žurga P, Bulog A, et al. Novel, oxygenated clinoptilolite material efficiently removes aluminium from aluminium chloride-intoxicated rats in vivo. *Microporous and Mesoporous Materials*. 2017;249:146-56.
25. Ambrozova P, Kynicky J, Urubek T, Nguyen VD. Synthesis and Modification of Clinoptilolite. *Molecules*. 2017;22(7).
26. Koyama K, Takeuchi Y. Clinoptilolite: the distribution of potassium atoms and its role in thermal stability. *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials*. 1977;145(3-4):216-39.
27. Tondar M, Parsa MJ, Yousefpour Y, Sharifi AM, Shetab-Boushehri SV. Feasibility of clinoptilolite application as a microporous carrier for pH-controlled oral delivery of aspirin. *Acta Chim Slov*. 2014;61(4):688-93.

28. Wu QJ, Zhou YM, Wu YN, Zhang LL, Wang T. The effects of natural and modified clinoptilolite on intestinal barrier function and immune response to LPS in broiler chickens. *Vet Immunol Immunopathol.* 2013;153(1-2):70-6.
29. Wu QJ, Wang LC, Zhou YM, Zhang JF, Wang T. Effects of clinoptilolite and modified clinoptilolite on the growth performance, intestinal microflora, and gut parameters of broilers. *Poult Sci.* 2013;92(3):684-92.
30. Mallek Z, Fendri I, Khannous L, Ben Hassena A, Traore AI, Ayadi M-A, et al. Effect of zeolite (clinoptilolite) as feed additive in Tunisian broilers on the total flora, meat texture and the production of omega 3 polyunsaturated fatty acid. *Lipids in Health and Disease.* 2012;11(1):35.
31. Wang LC, Zhang TT, Wen C, Jiang ZY, Wang T, Zhou YM. Protective effects of zinc-bearing clinoptilolite on broilers challenged with *Salmonella pullorum*. *Poult Sci.* 2012;91(8):1838-45.
32. Jarosz L, Stepień-Pysniak D, Gradzki Z, Kapica M, Gacek A. The effect of feed supplementation with Zakarpaczi zeolite (clinoptilolite) on percentages of T and B lymphocytes and cytokine concentrations in poultry. *Poult Sci.* 2017;96(7):2091-7.
33. Saribeyoglu K, Aytac E, Pekmezci S, Saygili S, Uzun H, Ozbay G, et al. Effects of clinoptilolite treatment on oxidative stress after partial hepatectomy in rats. *Asian J Surg.* 2011;34(4):153-7.
34. Yapislar H, Taskin E, Ozdas S, Akin D, Sonmez E. Counteraction of Apoptotic and Inflammatory Effects of Adriamycin in the Liver Cell Culture by Clinoptilolite. *Biol Trace Elem Res.* 2016;170(2):373-81.
35. Pavelić K, Hadzija M, Bedrica L, Pavelić J, Dikić I, Katić M, et al. Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J Mol Med (Berl).* 2001;78(12):708-20.
36. Zarkovic N, Zarkovic K, Kralj M, Borovic S, Sabolovic S, Blazi MP, et al. Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite. *Anticancer Res.* 2003;23(2b):1589-95.
37. Potgieter W, Samuels CS, Snyman JR. Potentiated clinoptilolite: artificially enhanced aluminosilicate reduces symptoms associated with endoscopically negative gastroesophageal reflux disease and nonsteroidal anti-inflammatory drug induced gastritis. *Clin Exp Gastroenterol.* 2014;7:215-20.

38. Ivkovic S, Zabcic D, editors. Antioxidative therapy: Nanotechnology product, TMA-zeolite reduces oxidative stress in cancer and diabetic patients. *Free Radical Biology and Medicine*; 2002: PERGAMON-ELSEVIER SCIENCE LTD THE BOULEVARD, LANGFORD LANE, KIDLINGTON
39. Ivkovic S, Zabcic D, editors. The effect of tribomechanically activated zeolite (TMAZ) on total antioxidant status of healthy individuals and patients with malignant disease. *Free radical biology and medicine*; 2002: PERGAMON-ELSEVIER SCIENCE LTD THE BOULEVARD, LANGFORD LANE, KIDLINGTON
40. Cutovic M, Lazovic M, Vukovic-Dejanovic V, Nikolic D, Petronic-Markovic I, Cirovic D. Clinoptilolite for Treatment of Dyslipidemia: Preliminary Efficacy Study. *J Altern Complement Med*. 2017;23(9):738-44.
41. Kraljević Pavelić S, Micek V, Bobinac D, Bazdulj E, Gianoncelli A. Treatment of osteoporosis with a modified zeolite shows beneficial effects in an osteoporotic rat model and a human clinical trial. 2021;246(5):529-37.
42. Vitale MG, Barbato C, Crispo A, Habetswallner F, Martino BM, Riccardi F, et al. ZeOxaNMulti Trial: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial of Oral PMA-zeolite to prevent Chemotherapy-Induced Side Effects, in particular, Peripheral Neuropathy. *Molecules*. 2020;25(10).
43. Martín Giménez VM, Bergam I, Reiter RJ, Manucha W. Metal ion homeostasis with emphasis on zinc and copper: Potential crucial link to explain the non-classical antioxidative properties of vitamin D and melatonin. *Life sciences*. 2021;281:119770.
44. Colella C. A critical reconsideration of biomedical and veterinary applications of natural zeolites. *Clay Minerals*. 2011;46(2):295-309.
45. Herceg Z, Lelas V, Brnčić M, Tripalo B, Jezek D. Tribomechanical micronization and activation of whey protein concentrate and zeolite. *Sadhana*. 2004;29(1):13-26.
46. Joshi JT. A review on micronization techniques. *J Pharm Sci Technol*. 2011;3(7):651-81.
47. Andrić L, Trumić M, Trumić M, Nikolić V. Micronization of zeolite in vibration mill. *Recycling and Sustainable Development*. 2018;11(1):63-71.
48. Wilschefski SC, Baxter MR. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin Biochem Rev*. 2019;40(3):115-33.

49. Laur N, Kinscherf R, Pomytkin K, Kaiser L, Knes O, Deigner H-P. ICP-MS trace element analysis in serum and whole blood. *PLoS One*. 2020;15(5):e0233357-e.
50. Mohammadifard N, Humphries KH, Gotay C, Mena-Sánchez G, Salas-Salvadó J, Esmailzadeh A, et al. Trace minerals intake: Risks and benefits for cardiovascular health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(8):1334-46.
51. Weyh C, Krüger K, Peeling P, Castell L. The Role of Minerals in the Optimal Functioning of the Immune System. *Nutrients*. 2022;14(3).
52. Godswill AG, Somtochukwu IV, Ikechukwu AO, Kate EC. Health Benefits of Micronutrients (Vitamins and Minerals) and their Associated Deficiency Diseases: A Systematic Review. *International Journal of Food Sciences*. 2020;3(1):1 - 32.
53. Hejna M, Gottardo D, Baldi A, Dell'Orto V, Cheli F, Zaninelli M, et al. Review: Nutritional ecology of heavy metals. *Animal*. 2018;12(10):2156-70.
54. Zoroddu MA, Aaseth J, Crisponi G, Medici S, Peana M, Nurchi VM. The essential metals for humans: a brief overview. *J Inorg Biochem*. 2019;195:120-9.
55. Blaauw R, Osland E, Sriram K, Ali A, Allard JP, Ball P, et al. Parenteral Provision of Micronutrients to Adult Patients: An Expert Consensus Paper. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2019;43 Suppl 1:S5-s23.
56. Cockell KA. Mineral Nutrients. In: Schwab M, editor. *Encyclopedia of Cancer*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 2318-22.
57. Morris AL, Mohiuddin SS. Biochemistry, Nutrients. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
58. Allgrove J. Physiology of Calcium, Phosphate, Magnesium and Vitamin D. *Endocrine development*. 2015;28:7-32.
59. Yu AS. Evolving concepts in epithelial magnesium transport. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2001;10(5):649-53.
60. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2015;10(7):1257-72.
61. Lameris AL, Nevalainen PI, Reijnen D, Simons E, Eygensteyn J, Monnens L. Segmental transport of Ca²⁺ and Mg²⁺ along the gastrointestinal tract. *2015;308(3):G206-16*.
62. Famitafreshi H, Karimian M. Toward Application of Macrominerals and Trace Elements for Treatment of Psychiatric Diseases. *Psychiatr Danub*. 2022;34(2):323-4.

63. Newberry SJ, Chung M, Anderson CAM, Chen C, Fu Z, Tang A, et al. AHRQ Comparative Effectiveness Reviews. Sodium and Potassium Intake: Effects on Chronic Disease Outcomes and Risks. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2018.
64. Berndt T, Kumar R. Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis. *Physiology (Bethesda, Md)*. 2009;24:17-25.
65. Cordell D, Neset TS, Prior T. The phosphorus mass balance: identifying 'hotspots' in the food system as a roadmap to phosphorus security. *Current opinion in biotechnology*. 2012;23(6):839-45.
66. Martiniakova M, Babikova M, Mondockova V, Blahova J, Kovacova V, Omelka R. The Role of Macronutrients, Micronutrients and Flavonoid Polyphenols in the Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Nutrients*. 2022;14(3):523.
67. Reid IR, Bristow SM, Bolland MJ. Calcium supplements: benefits and risks. *Journal of internal medicine*. 2015;278(4):354-68.
68. Weaver CM. Assessing Calcium Status and Metabolism. *The Journal of Nutrition*. 1990;120(suppl_11):1470-3.
69. Palmer BF, Clegg DJ. Physiology and Pathophysiology of Potassium Homeostasis: Core Curriculum 2019. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2019;74(5):682-95.
70. McDonough AA, Youn JH. Potassium Homeostasis: The Knowns, the Unknowns, and the Health Benefits. *Physiology (Bethesda, Md)*. 2017;32(2):100-11.
71. Stone MS, Martyn L, Weaver CM. Potassium Intake, Bioavailability, Hypertension, and Glucose Control. *Nutrients*. 2016;8(7):444.
72. Pun PH, Middleton JP. Dialysate Potassium, Dialysate Magnesium, and Hemodialysis Risk. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2017;28(12):3441-51.
73. Bonilla-Félix M. Potassium regulation in the neonate. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2017;32(11):2037-49.
74. Barbagallo M, Veronese N, Dominguez LJ. Magnesium in Aging, Health and Diseases. *Nutrients*. 2021;13(2):463.
75. Reddy ST, Soman SS, Yee J. Magnesium Balance and Measurement. *Advances in chronic kidney disease*. 2018;25(3):224-9.

76. King DE, Mainous III AG, Geesey ME, Woolson RF. Dietary magnesium and C-reactive protein levels. *Journal of the American College of Nutrition*. 2005;24(3):166-71.
77. Razzaque MS. Magnesium: Are We Consuming Enough? *Nutrients*. 2018;10(12).
78. Curry JN, Yu ASL. Magnesium Handling in the Kidney. *Advances in chronic kidney disease*. 2018;25(3):236-43.
79. Van Laecke S. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Acta clinica Belgica*. 2019;74(1):41-7.
80. Strazzullo P, Leclercq C. Sodium. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2014;5(2):188-90.
81. Kirabo A. A new paradigm of sodium regulation in inflammation and hypertension. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2017;313(6):R706-r10.
82. Titze J, Dahlmann A, Lerchl K, Kopp C, Rakova N, Schröder A, et al. Spooky sodium balance. *Kidney international*. 2014;85(4):759-67.
83. Agócs RI, Sugár D, Pap D, Szabó AJ. [The immunomodulatory role of sodium]. *Orvosi hetilap*. 2019;160(17):646-53.
84. Kooman JP, van der Sande F, Leunissen K, Locatelli F. Sodium balance in hemodialysis therapy. *Seminars in dialysis*. 2003;16(5):351-5.
85. Wohl MG, Goodhart RS. *Modern nutrition in health and disease*. Modern nutrition in health and disease. 1968.
86. Chang AR, Anderson C. Dietary Phosphorus Intake and the Kidney. *Annual review of nutrition*. 2017;37:321-46.
87. Elder GJ, Malik A, Lambert K. Role of dietary phosphate restriction in chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton, Vic)*. 2018;23(12):1107-15.
88. Calvo MS, Lamberg-Allardt CJ. Phosphorus. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2015;6(6):860-2.
89. Serna J, Bergwitz C. Importance of Dietary Phosphorus for Bone Metabolism and Healthy Aging. *Nutrients*. 2020;12(10).
90. Vorland CJ, Lachcik PJ, Aromeh LO, Moe SM, Chen NX, Hill Gallant KM. Effect of dietary phosphorus intake and age on intestinal phosphorus absorption efficiency and phosphorus balance in male rats. *PLoS One*. 2018;13(11):e0207601.

91. Hänsch R, Mendel RR. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*. 2009;12(3):259-66.
92. Kozeniecki M, Ludke R, Kerner J, Patterson B. Micronutrients in Liver Disease: Roles, Risk Factors for Deficiency, and Recommendations for Supplementation. *Nutr Clin Pract*. 2020;35(1):50-62.
93. Mateu de Antonio X. [Micronutrients in enteral nutrition formulas. Is it possible to innovate?]. *Nutr Hosp*. 2018;35(Spec no2):13-7.
94. Gaur S, Agnihotri R. Trace Mineral Micronutrients and Chronic Periodontitis-a Review. *Biol Trace Elem Res*. 2017;176(2):225-38.
95. Maggini S, Pierre A, Calder PC. Immune Function and Micronutrient Requirements Change over the Life Course. *Nutrients*. 2018;10(10).
96. Shenkin A. Micronutrients in health and disease. *Postgrad Med J*. 2006;82(971):559-67.
97. Chiu HF, Venkatakrishnan K, Golovinskaia O, Wang CK. Impact of Micronutrients on Hypertension: Evidence from Clinical Trials with a Special Focus on Meta-Analysis. *Nutrients*. 2021;13(2).
98. Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nature chemical biology*. 2008;4(3):176-85.
99. Doguer C, Ha JH, Collins JF. Intersection of Iron and Copper Metabolism in the Mammalian Intestine and Liver. *Comprehensive Physiology*. 2018;8(4):1433-61.
100. Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*. 2016;35:107-15.
101. Shike M. Copper in parenteral nutrition. *Gastroenterology*. 2009;137(5 Suppl):S13-7.
102. Donnelly PS, Xiao Z, Wedd AG. Copper and Alzheimer's disease. *Current opinion in chemical biology*. 2007;11(2):128-33.
103. Becker KW, Skaar EP. Metal limitation and toxicity at the interface between host and pathogen. *FEMS microbiology reviews*. 2014;38(6):1235-49.
104. Michalczyk K, Cymbaluk-Płoska A. The Role of Zinc and Copper in Gynecological Malignancies. *Nutrients*. 2020;12(12).
105. Evstatiev R, Gasche C. Iron sensing and signalling. *Gut*. 2012;61(6):933-52.
106. Ganz T. Systemic iron homeostasis. *Physiological reviews*. 2013;93(4):1721-41.

107. Pantopoulos K, Porwal SK, Tartakoff A, Devireddy L. Mechanisms of mammalian iron homeostasis. *Biochemistry*. 2012;51(29):5705-24.
108. Muckenthaler MU, Galy B, Hentze MW. Systemic iron homeostasis and the iron-responsive element/iron-regulatory protein (IRE/IRP) regulatory network. *Annual review of nutrition*. 2008;28:197-213.
109. Verbon EH, Trapet PL, Stringlis IA, Kruijs S, Bakker P, Pieterse CMJ. Iron and Immunity. *Annual review of phytopathology*. 2017;55:355-75.
110. Ganz T, Nemeth E. Iron Balance and the Role of Hepcidin in Chronic Kidney Disease. *Seminars in nephrology*. 2016;36(2):87-93.
111. Dev S, Babitt JL. Overview of iron metabolism in health and disease. *Hemodialysis international Symposium on Home Hemodialysis*. 2017;21 Suppl 1(Suppl 1):S6-s20.
112. Sangkhae V, Nemeth E. Regulation of the Iron Homeostatic Hormone Hepcidin. *Advances in nutrition (Bethesda, Md)*. 2017;8(1):126-36.
113. Wang CY, Babitt JL. Liver iron sensing and body iron homeostasis. 2019;133(1):18-29.
114. Hinton PS. Iron and the endurance athlete. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2014;39(9):1012-8.
115. Aschner JL, Aschner M. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Molecular aspects of medicine*. 2005;26(4-5):353-62.
116. Balachandran RC, Mukhopadhyay S. Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity. 2020;295(19):6312-29.
117. McCabe SM, Zhao N. The Potential Roles of Blood-Brain Barrier and Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier in Maintaining Brain Manganese Homeostasis. *Nutrients*. 2021;13(6).
118. Ullah I, Zhao L, Hai Y, Fahim M, Alwayli D, Wang X, et al. "Metal elements and pesticides as risk factors for Parkinson's disease - A review". *Toxicology reports*. 2021;8:607-16.
119. Sule K, Umbsaar J, Prenner EJ. Mechanisms of Co, Ni, and Mn toxicity: From exposure and homeostasis to their interactions with and impact on lipids and biomembranes. *Biochimica et biophysica acta Biomembranes*. 2020;1862(8):183250.

120. Stefan Bleich, M.D. ,, Detlef Degner, M.D. ,, Rüdiger Sprung, M.D. ,, Antje Riegel, M.D. ,, Wolfgang Poser, M.D. , and, Eckart Rütther, M.D. , Departments of Psychiatry, Forensic Medicine,, et al. Chronic Manganism: Fourteen Years of Follow-up. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences. 1999;11(1):117-.
121. Broom LJ, Monteiro A. Recent Advances in Understanding the Influence of Zinc, Copper, and Manganese on the Gastrointestinal Environment of Pigs and Poultry. 2021;11(5).
122. Waters LS. Bacterial manganese sensing and homeostasis. Current opinion in chemical biology. 2020;55:96-102.
123. Crossgrove J, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure. NMR Biomed. 2004;17(8):544-53.
124. Benstoem C, Goetzenich A, Kraemer S, Borosch S, Manzanares W, Hardy G, et al. Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know? Nutrients. 2015;7(5):3094-118.
125. Khurana A, Tekula S, Saifi MA, Venkatesh P, Godugu C. Therapeutic applications of selenium nanoparticles. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie. 2019;111:802-12.
126. Kielczykowska M, Kocot J, Paździor M, Musik I. Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University. 2018;27(2):245-55.
127. Moghaddam A, Heller RA. Selenium Deficiency Is Associated with Mortality Risk from COVID-19. 2020;12(7).
128. Bizerea TO, Dezsi SG, Marginean O, Stroescu R, Rogobete A, Bizerea-Spiridon O, et al. The Link Between Selenium, Oxidative Stress and Pregnancy Induced Hypertensive Disorders. Clinical laboratory. 2018;64(10):1593-610.
129. Evans GW. Zinc and its deficiency diseases. Clin Physiol Biochem. 1986;4(1):94-8.
130. Kambe T, Tsuji T, Hashimoto A, Isumura N. The Physiological, Biochemical, and Molecular Roles of Zinc Transporters in Zinc Homeostasis and Metabolism. Physiological reviews. 2015;95(3):749-84.
131. Liuzzi JP, Guo L, Yoo C, Stewart TS. Zinc and autophagy. Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine. 2014;27(6):1087-96.

132. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2013;18(2):144-57.
133. Kim B, Lee WW. Regulatory Role of Zinc in Immune Cell Signaling. 2021;44(5):335-41.
134. Muthuvattur Pallath M, Ahirwar AK, Chandra Tripathi S, Asia P, Sakarde A, Gopal N. COVID-19 and nutritional deficiency: a review of existing knowledge. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2021;42(1):77-85.
135. Bilal M, Iqbal HMN. An insight into toxicity and human-health-related adverse consequences of cosmeceuticals - A review. *The Science of the total environment*. 2019;670:555-68.
136. Bolan S, Kunhikrishnan A, Seshadri B, Choppala G, Naidu R, Bolan NS, et al. Sources, distribution, bioavailability, toxicity, and risk assessment of heavy metal(loid)s in complementary medicines. *Environment international*. 2017;108:103-18.
137. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl*. 2012;101:133-64.
138. Lash LH. Environmental and Genetic Factors Influencing Kidney Toxicity. *Seminars in nephrology*. 2019;39(2):132-40.
139. Borowska S, Brzóska MM. Metals in cosmetics: implications for human health. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2015;35(6):551-72.
140. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary toxicology*. 2014;7(2):60-72.
141. Rzymiski P, Tomczyk K, Rzymiski P, Poniedziałek B, Opala T, Wilczak M. Impact of heavy metals on the female reproductive system. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*. 2015;22(2):259-64.
142. Jin Y, Wu S, Zeng Z, Fu Z. Effects of environmental pollutants on gut microbiota. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2017;222:1-9.
143. Al Osman M, Yang F. Exposure routes and health effects of heavy metals on children. 2019;32(4):563-73.
144. Zhou F, Yin G, Gao Y, Liu D, Xie J, Ouyang L, et al. Toxicity assessment due to prenatal and lactational exposure to lead, cadmium and mercury mixtures. *Environment international*. 2019;133(Pt B):105192.

145. Fisher RM, Gupta V. Heavy Metals. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
146. Karahan F, Ozyigit, II, Saracoglu IA, Yalcin IE, Ozyigit AH, Ilcim A. Heavy Metal Levels and Mineral Nutrient Status in Different Parts of Various Medicinal Plants Collected from Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Biol Trace Elem Res.* 2020;197(1):316-29.
147. Średnicka P, Juszczuk-Kubiak E, Wójcicki M, Akimowicz M, Roszko M. Probiotics as a biological detoxification tool of food chemical contamination: A review. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association.* 2021;153:112306.
148. Zheng F, Gonçalves FM, Abiko Y, Li H, Kumagai Y, Aschner M. Redox toxicology of environmental chemicals causing oxidative stress. *Redox biology.* 2020;34:101475.
149. Zwolak I. The Role of Selenium in Arsenic and Cadmium Toxicity: an Updated Review of Scientific Literature. *Biol Trace Elem Res.* 2020;193(1):44-63.
150. Maya S, Prakash T, Madhu KD, Goli D. Multifaceted effects of aluminium in neurodegenerative diseases: A review. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie.* 2016;83:746-54.
151. Igbokwe IO, Igwenagu E, Igbokwe NA. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdisciplinary toxicology.* 2019;12(2):45-70.
152. Exley C. Human exposure to aluminium. *Environmental science Processes & impacts.* 2013;15(10):1807-16.
153. Exley C. The toxicity of aluminium in humans. *Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes.* 2016;100(329):51-5.
154. Bojórquez-Quintal E, Escalante-Magaña C, Echevarría-Machado I, Martínez-Estévez M. Aluminum, a Friend or Foe of Higher Plants in Acid Soils. *Front Plant Sci.* 2017;8:1767-.
155. Roskams AJ, Connor JR. Aluminum access to the brain: a role for transferrin and its receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1990;87(22):9024-7.
156. Gupta VB, Anitha S, Hegde ML, Zecca L, Garruto RM, Ravid R, et al. Aluminium in Alzheimer's disease: are we still at a crossroad? *Cellular and molecular life sciences : CMLS.* 2005;62(2):143-58.

157. Mocanu CS, Jureschi M, Drochioiu G. Aluminium Binding to Modified Amyloid- β Peptides: Implications for Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2020;25(19).
158. Mold M, Umar D, King A, Exley C. Aluminium in brain tissue in autism. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*. 2018;46:76-82.
159. Davenward S, Bentham P, Wright J, Crome P, Job D, Polwart A, et al. Silicon-rich mineral water as a non-invasive test of the 'aluminum hypothesis' in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2013;33(2):423-30.
160. Kuivenhoven M, Mason K. Arsenic Toxicity. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
161. Jomova K, Jenisova Z, Feszterova M, Baros S, Liska J, Hudecova D, et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2011;31(2):95-107.
162. Nurchi VM, Djordjevic AB, Crisponi G, Alexander J, Bjørklund G, Aaseth J. Arsenic Toxicity: Molecular Targets and Therapeutic Agents. *Biomolecules*. 2020;10(2).
163. Hu Y, Li J, Lou B, Wu R, Wang G, Lu C, et al. The Role of Reactive Oxygen Species in Arsenic Toxicity. 2020;10(2).
164. Ratnaike RN. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad Med J*. 2003;79(933):391-6.
165. Martinez VD, Vucic EA, Becker-Santos DD, Gil L, Lam WL. Arsenic exposure and the induction of human cancers. *J Toxicol*. 2011;2011:431287-.
166. Rahaman MS, Rahman MM, Mise N, Sikder MT, Ichihara G, Uddin MK, et al. Environmental arsenic exposure and its contribution to human diseases, toxicity mechanism and management. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2021;289:117940.
167. Singh R, Singh S, Parihar P, Singh VP, Prasad SM. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2015;112:247-70.
168. Mawia AM, Hui S, Zhou L, Li H, Tabassum J, Lai C, et al. Inorganic arsenic toxicity and alleviation strategies in rice. *Journal of hazardous materials*. 2021;408:124751.

169. Wang QQ, Hua HY, Naranmandura H, Zhu HH. Balance between the toxicity and anticancer activity of arsenic trioxide in treatment of acute promyelocytic leukemia. *Toxicology and applied pharmacology*. 2020;409:115299.
170. Kumar S, Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Reviews on environmental health*. 2019;34(4):327-38.
171. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11).
172. Earley BJ, Cubillas C, Warnhoff K, Ahmad R, Alcantar A, Lyon MD, et al. Cadmium hijacks the high zinc response by binding and activating the HIZR-1 nuclear receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(42).
173. Johri N, Jacquillet G, Unwin R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 2010;23(5):783-92.
174. Ohba KI. [Transport and Toxicity of Cadmium]. *Nihon eiseigaku zasshi Japanese journal of hygiene*. 2018;73(3):269-74.
175. Bhardwaj JK, Panchal H, Saraf P. Cadmium as a testicular toxicant: A Review. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2021;41(1):105-17.
176. Hossein-Khannazer N, Azizi G, Eslami S, Alhassan Mohammed H. The effects of cadmium exposure in the induction of inflammation. 2020;42(1):1-8.
177. Rinaldi M, Micali A, Marini H, Adamo EB, Puzzolo D, Pisani A, et al. Cadmium, Organ Toxicity and Therapeutic Approaches: A Review on Brain, Kidney and Testis Damage. *Current medicinal chemistry*. 2017;24(35):3879-93.
178. Barceloux DG. Cobalt. *Journal of toxicology Clinical toxicology*. 1999;37(2):201-6.
179. Gault N, Sandre C, Poncy JL, Moulin C, Lefaix JL, Bresson C. Cobalt toxicity: chemical and radiological combined effects on HaCaT keratinocyte cell line. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(1):92-8.
180. Lison D. Human toxicity of cobalt-containing dust and experimental studies on the mechanism of interstitial lung disease (hard metal disease). *Critical reviews in toxicology*. 1996;26(6):585-616.
181. Leyssens L, Vinck B, Van Der Straeten C, Wuyts F, Maes L. Cobalt toxicity in humans-A review of the potential sources and systemic health effects. *Toxicology*. 2017;387:43-56.

182. Catalani S, Rizzetti MC, Padovani A, Apostoli P. Neurotoxicity of cobalt. *Hum Exp Toxicol.* 2012;31(5):421-37.
183. Barras F, Fontecave M. Cobalt stress in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*: molecular bases for toxicity and resistance. *Metallomics : integrated biometal science.* 2011;3(11):1130-4.
184. Hassan MU, Chattha MU, Khan I, Chattha MB, Aamer M, Nawaz M, et al. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities-a review. *Environmental science and pollution research international.* 2019;26(13):12673-88.
185. Zambelli B, Uversky VN, Ciurli S. Nickel impact on human health: An intrinsic disorder perspective. *Biochimica et biophysica acta.* 2016;1864(12):1714-31.
186. Barceloux DG. Nickel. *Journal of toxicology Clinical toxicology.* 1999;37(2):239-58.
187. Benoit SL, Schmalstig AA, Glushka J, Maier SE, Edison AS, Maier RJ. Nickel chelation therapy as an approach to combat multi-drug resistant enteric pathogens. *Scientific Reports.* 2019;9(1):13851.
188. Das KK, Reddy RC, Bagoji IB, Das S, Bagali S, Mullur L, et al. Primary concept of nickel toxicity - an overview. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology.* 2018;30(2):141-52.
189. Macomber L, Hausinger RP. Mechanisms of nickel toxicity in microorganisms. *Metallomics : integrated biometal science.* 2011;3(11):1153-62.
190. Genchi G, Carocci A, Lauria G, Sinicropi MS, Catalano A. Nickel: Human Health and Environmental Toxicology. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(3).
191. Kumar A, Jigyasu DK, Kumar A, Subrahmanyam G, Mondal R, Shabnam AA, et al. Nickel in terrestrial biota: Comprehensive review on contamination, toxicity, tolerance and its remediation approaches. *Chemosphere.* 2021;275:129996.
192. Zambelli B, Ciurli S. Nickel and human health. *Metal ions in life sciences.* 2013;13:321-57.
193. Tsao YC, Gu PW, Liu SH, Tzeng IS, Chen JY, Luo JJ. Nickel exposure and plasma levels of biomarkers for assessing oxidative stress in nickel electroplating workers. *Biomarkers.* 2017;22(5):455-60.
194. Needleman HL. The persistent threat of lead: medical and sociological issues. *Current problems in pediatrics.* 1988;18(12):697-744.
195. Gidlow DA. Lead toxicity. *Occup Med (Lond).* 2015;65(5):348-56.

196. Krzywy I, Krzywy E, Pastuszek-Gabinowska M, Brodkiewicz A, editors. Lead--is there something to be afraid of? *Annales Academiae Medicae Stetinensis*; 2010.
197. Shinkai Y, Kaji T. Cellular Defense Mechanisms against Lead Toxicity in the Vascular System. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2012;35(11):1885-91.
198. Halmo L, Nappe TM. Lead Toxicity. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
199. Charkiewicz AE, Backstrand JR. Lead Toxicity and Pollution in Poland. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(12).
200. Miranda ML, Kim D, Galeano MAO, Paul CJ, Hull AP, Morgan SP. The Relationship between Early Childhood Blood Lead Levels and Performance on End-of-Grade Tests. *Environmental Health Perspectives*. 2007;115(8):1242-7.
201. Naranjo VI, Hendricks M, Jones KS. Lead Toxicity in Children: An Unremitting Public Health Problem. *Pediatric neurology*. 2020;113:51-5.
202. Aslam M, Aslam A, Sheraz M, Ali B, Ulhassan Z, Najeeb U, et al. Lead Toxicity in Cereals: Mechanistic Insight Into Toxicity, Mode of Action, and Management. *Front Plant Sci*. 2020;11:587785.
203. Kumar A, Kumar A, M MSC, Chaturvedi AK, Shabnam AA, Subrahmanyam G, et al. Lead Toxicity: Health Hazards, Influence on Food Chain, and Sustainable Remediation Approaches. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(7).
204. Mitra A, Chatterjee S, Kataki S, Rastogi RP, Gupta DK. Bacterial tolerance strategies against lead toxicity and their relevance in bioremediation application. 2021;28(12):14271-84.
205. Pors Nielsen S. The biological role of strontium. *Bone*. 2004;35(3):583-8.
206. Cohen-Solal M. Strontium overload and toxicity: impact on renal osteodystrophy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2002;17 Suppl 2:30-4.
207. Ricci G, Bae AS, Catoe B, Watson BC. End-Stage Tibiotalar Osteoarthritis and Chronic Strontium Toxicity. *Cureus*. 2021;13(8):e16866.
208. Pilmane M, Salma-Ancane K, Loca D, Locs J, Berzina-Cimdina L. Strontium and strontium ranelate: Historical review of some of their functions. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2017;78:1222-30.

209. Fernandes G, Vanyo ST, Alsharif SBA, Andreana S, Visser MB, Dziak R. Strontium Effects on Human Gingival Fibroblasts. *The Journal of oral implantology*. 2019;45(4):274-80.
210. Jiménez M, Abradelo C, San Román J, Rojo L. Bibliographic review on the state of the art of strontium and zinc based regenerative therapies. Recent developments and clinical applications. *Journal of materials chemistry B*. 2019;7(12):1974-85.
211. Li Y, Yue J, Liu Y, Wu J, Guan M, Chen D, et al. Strontium regulates stem cell fate during osteogenic differentiation through asymmetric cell division. *Acta biomaterialia*. 2021;119:432-43.
212. Finlay IG, Mason MD, Shelley M. Radioisotopes for the palliation of metastatic bone cancer: a systematic review. *The Lancet Oncology*. 2005;6(6):392-400.
213. Council NR. Guide for the care and use of laboratory animals. 2010.
214. Thomas JA, Ballantyne B. Toxicological Assessment of Zeolites. *Journal of the American College of Toxicology*. 1992;11(3):259-273. doi:10.3109/10915819209141860.
215. Bulog A, Pavelic K, Šutić I, Kraljevic Pavelic S. PMA-Zeolite: Chemistry and Diverse Medical Applications. *J Funct Biomater*. 2024 Oct 4;15(10):296. doi: 10.3390/jfb15100296.
216. Hubrecht R. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011 The Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (2011). Published by the National Research Council of the National Academies, Washington DC, USA. 219 pp Paperback (ISBN 0-309-15400-6). Price US \$19.95. *Animal Welfare*. 2011;20(3):455-6.
217. Loizidou M, Townsend RP. Exchange of cadmium into the sodium and ammonium forms of the natural zeolites clinoptilolite, mordenite, and ferrierite. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*. 1987(8):1911-6.
218. Blanchard G, Maunaye M, Martin G. Removal of heavy metals from waters by means of natural zeolites. *Water research*. 1984;18(12):1501-7.
219. Burgess R, Perron M, Cantwell M, Ho K, Serbst J, Pelletier M. Use of zeolite for removing ammonia and ammonia-caused toxicity in marine toxicity identification evaluations. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2004;47:440-7.

220. Eisenwagen S, Pavelic K. Potential role of zeolites in rehabilitation of cancer patients. *Archives of Physiotherapy and Rehabilitation*. 2020;3(2):29-40.
221. Kraljević Pavelić S, Saftić Martinović L, Simović Medica J, Žuvić M, Perdija Ž, Krpan D, et al. Clinical Evaluation of a Defined Zeolite-Clinoptilolite Supplementation Effect on the Selected Blood Parameters of Patients. *Frontiers in Medicine*. 2022;9.
222. Pavelić SK, Hadžija M, Kraljević Pavelić S. Critical Review on Zeolite Clinoptilolite Safety and Medical Applications in Vivo. *Front Pharmacol*. 2018 Nov 26;9:1350. doi: 10.3389/fphar.2018.01350.
223. Papaioannou DS, Kyriakis SC, Papasteriadis A, Roumbies N, Yannakopoulos A, Alexopoulos C.. Effect of in-feed inclusion of a natural zeolite (clinoptilolite) on vitamins and mineral concentrations in animals. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2002 Feb;86(1-2):28-37.
223. Petkov V, Schütz B, Eisenwagen S, Muss C, Mosgoeller W. PMA-zeolite can modulate inflammation associated markers in irritable bowel disease - an explorative randomized, double blinded, controlled pilot trial. *Neuro Endocrinol Lett*. 2021;42(1):1-12.
224. Pavelić K, Kraljević Pavelić S, Brix B, Goswami N. A Perspective on COVID-19 Management. *J Clin Med*. 2021;10(8).
225. Çelikbaş İ, Mavi E, Hepokur C. The evaluation of the effects of natural zeolite (Clinoptilolite) on bone healing in rats. *J Trace Elem Med Biol*. 2023;75:127102. doi: 10.1016/j.jtemb.2022.127102.
226. Dumková J, Smutná T, Vrlíková L, Dočekal B, Kristeková D, Večeřa Z, et al. A Clearance Period after Soluble Lead Nanoparticle Inhalation Did Not Ameliorate the Negative Effects on Target Tissues Due to Decreased Immune Response. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22).
227. Koch MA. Experimental modeling and research methodology. The laboratory rat: Elsevier; 2006. p. 587-625.
228. Ambrose A, PS L, JF B, GR JR H. Long term toxicologic assessment of nickel in rats and dogs. 1976.
229. Rodríguez J, Mandalunis PM. A review of metal exposure and its effects on bone health. *J Toxicol*. 2018;2018.

230. Xing M, Wang X, Wang E, Gao L, Chang J. Bone tissue engineering strategy based on the synergistic effects of silicon and strontium ions. *Acta biomaterialia*. 2018;72:381-95.
231. Kraljević Pavelić S, Saftić Martinović L, Simović Medica J, Žuvić M, Perdića Ž, Krpan D, et al. Clinical Evaluation of a Defined Zeolite-Clinoptilolite Supplementation Effect on the Selected Blood Parameters of Patients. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:851782.

7. PRILOZI

Prilog 1. Dnevnik rada.

1. tjedan (10. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	217.04	Normalna	Smeđa
NEG 02	215.50	Normalna	Smeđa
NEG 03	214.04	Normalna	Smeđa
NEG 04	213.29	Normalna	Smeđa
NEG 05	211.71	Normalna	Smeđa
NEG 06	212.64	Normalna	Smeđa
NEG 07	211.89	Normalna	Smeđa
NEG 08	217.80	Normalna	Smeđa
NEG 09	217.76	Normalna	Smeđa
NEG 10	212.16	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	216.50	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 02	213.07	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 03	213.58	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 04	218.25	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
TMAZ 05	209.07	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 06	207.32	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 07	206.46	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija

TMAZ 08	217.03	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 09	216.33	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
TMAZ 10	217.52	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
PMA 01	218.93	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
PMA 02	216.60	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
PMA 03	212.20	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
PMA 04	216.35	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/svjetlija
PMA 05	207.73	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
PMA 06	214.52	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
PMA 07	208.05	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
PMA 08	218.49	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
PMA 09	212.98	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
PMA 10	211.59	Mekša (zadnja 2 dana)	Smeđa/ svjetlija
LUDOX 01	209.63	Normalna	Smeđa
LUDOX 02	216.27	Normalna	Smeđa
LUDOX 03	212.13	Normalna	Smeđa
LUDOX 04	213.59	Normalna	Smeđa
LUDOX 05	206.44	Normalna	Smeđa
LUDOX 06	214.23	Normalna	Smeđa
LUDOX 07	214.16	Normalna	Smeđa

LUDOX 08	214.22	Normalna	Smeđa
LUDOX 09	218.48	Normalna	Smeđa
LUDOX 10	215.07	Normalna	Smeđa

Napomene: jedinke su vagane prvog dana u tjednu. Privikavanje na intragastričnu sondu započinje nekoliko dana (2-3) prije početka izlaganja životinja ispitivanim spojevima. Životinja se pravilno uhvati i sonda se polako uvodi u želudac dva-tri puta dnevno. Nakon nekoliko dana, administracija pripravaka prolazi bez ikakvog stresa.

2. tjedan (11. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	217.82	Normalna	Smeđa
NEG 02	216.28	Normalna	Smeđa
NEG 03	214.82	Normalna	Smeđa
NEG 04	214.07	Normalna	Smeđa
NEG 05	212.48	Normalna	Smeđa
NEG 06	213.41	Normalna	Smeđa
NEG 07	212.66	Normalna	Smeđa
NEG 08	218.58	Normalna	Smeđa
NEG 09	218.54	Normalna	Smeđa
NEG 10	212.93	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	217.29	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 02	213.86	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 03	214.37	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 04	219.03	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 05	209.85	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 06	208.09	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 07	207.22	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 08	217.80	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 09	217.12	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
TMAZ 10	218.29	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 01	219.71	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 02	217.38	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 03	212.98	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 04	217.13	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 05	208.51	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 06	215.29	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 07	208.82	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 08	219.26	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
PMA 09	213.75	Mekša (prvi dan)	Svjetlija

PMA 10	212.36	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 01	210.41	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 02	217.05	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 03	212.91	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 04	214.37	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 05	207.22	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 06	215.00	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 07	214.93	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 08	214.99	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 09	219.25	Mekša (prvi dan)	Svjetlija
LUDOX 10	215.84	Mekša (prvi dan)	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

3. tjedan (12. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	219.11	Normalna	Smeđa
NEG 02	217.55	Normalna	Smeđa
NEG 03	216.11	Normalna	Smeđa
NEG 04	215.19	Normalna	Smeđa
NEG 05	213.64	Normalna	Smeđa
NEG 06	214.72	Normalna	Smeđa
NEG 07	213.85	Normalna	Smeđa
NEG 08	220.21	Normalna	Smeđa
NEG 09	220.15	Normalna	Smeđa
NEG 10	214.72	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	218.87	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	215.46	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	215.88	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	220.02	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	211.23	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	209.53	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	208.68	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	219.52	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	218.64	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	219.81	Normalna	Svjetlija
PMA 01	220.93	Normalna	Svjetlija
PMA 02	219.56	Normalna	Svjetlija
PMA 03	215.16	Normalna	Svjetlija
PMA 04	219.12	Normalna	Svjetlija
PMA 05	210.10	Normalna	Svjetlija
PMA 06	217.02	Normalna	Svjetlija
PMA 07	210.04	Normalna	Svjetlija
PMA 08	221.14	Normalna	Svjetlija
PMA 09	215.04	Normalna	Svjetlija

PMA 10	213.38	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	211.19	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	217.83	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	213.69	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	215.15	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	207.99	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	215.77	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	215.71	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	215.77	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	220.03	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	216.61	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

4. tjedan (13. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	219.60	Normalna	Smeđa
NEG 02	216.30	Normalna	Smeđa
NEG 03	216.65	Normalna	Smeđa
NEG 04	221.49	Normalna	Smeđa
NEG 05	212.33	Normalna	Smeđa
NEG 06	210.46	Normalna	Smeđa
NEG 07	209.62	Normalna	Smeđa
NEG 08	220.18	Normalna	Smeđa
NEG 09	219.54	Normalna	Smeđa
NEG 10	220.74	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	222.12	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	219.98	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	215.96	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	219.93	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	210.75	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	217.97	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	211.11	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.93	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	215.80	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	214.68	Normalna	Svjetlija
PMA 01	214.58	Normalna	Svjetlija
PMA 02	218.76	Normalna	Svjetlija
PMA 03	215.61	Normalna	Svjetlija
PMA 04	216.98	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.80	Normalna	Svjetlija
PMA 06	216.90	Normalna	Svjetlija
PMA 07	216.84	Normalna	Svjetlija
PMA 08	216.90	Normalna	Svjetlija
PMA 09	221.16	Normalna	Svjetlija

PMA 10	217.58	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	219.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	216.30	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	216.65	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	221.49	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	212.33	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	210.46	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	209.62	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	220.18	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	219.54	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	220.74	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

5. tjedan (14. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	221.00	Normalna	Smeđa
NEG 02	219.50	Normalna	Smeđa
NEG 03	218.00	Normalna	Smeđa
NEG 04	217.20	Normalna	Smeđa
NEG 05	215.60	Normalna	Smeđa
NEG 06	216.60	Normalna	Smeđa
NEG 07	215.80	Normalna	Smeđa
NEG 08	222.20	Normalna	Smeđa
NEG 09	222.10	Normalna	Smeđa
NEG 10	216.50	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	220.60	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	217.20	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	217.50	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	222.50	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	213.10	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	211.20	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	210.30	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.20	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	220.60	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	221.80	Normalna	Svjetlija
PMA 01	223.00	Normalna	Svjetlija
PMA 02	220.70	Normalna	Svjetlija
PMA 03	216.60	Normalna	Svjetlija
PMA 04	220.60	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.40	Normalna	Svjetlija
PMA 06	218.50	Normalna	Svjetlija
PMA 07	211.60	Normalna	Svjetlija
PMA 08	222.70	Normalna	Svjetlija
PMA 09	216.50	Normalna	Svjetlija

PMA 10	215.40	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	215.50	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	219.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	216.50	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	217.90	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	212.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	217.90	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	217.80	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	217.90	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	222.20	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	218.50	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

6. tjedan (15. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	221.90	Normalna	Smeđa
NEG 02	220.41	Normalna	Smeđa
NEG 03	218.91	Normalna	Smeđa
NEG 04	218.10	Normalna	Smeđa
NEG 05	216.50	Normalna	Smeđa
NEG 06	217.50	Normalna	Smeđa
NEG 07	216.70	Normalna	Smeđa
NEG 08	223.10	Normalna	Smeđa
NEG 09	223.00	Normalna	Smeđa
NEG 10	217.40	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	221.35	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	217.96	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	218.34	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	223.21	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	213.83	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	211.85	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	210.92	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.91	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	221.34	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	222.56	Normalna	Svjetlija
PMA 01	223.59	Normalna	Svjetlija
PMA 02	221.18	Normalna	Svjetlija
PMA 03	217.19	Normalna	Svjetlija
PMA 04	221.09	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.88	Normalna	Svjetlija
PMA 06	219.12	Normalna	Svjetlija
PMA 07	212.10	Normalna	Svjetlija
PMA 08	223.37	Normalna	Svjetlija
PMA 09	217.15	Normalna	Svjetlija

PMA 10	216.03	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	216.31	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	220.44	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	217.28	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	218.68	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	213.34	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	218.64	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	218.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	218.68	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	223.01	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	219.28	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

7. tjedan (16. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	222.40	Normalna	Smeđa
NEG 02	220.84	Normalna	Smeđa
NEG 03	219.27	Normalna	Smeđa
NEG 04	218.54	Normalna	Smeđa
NEG 05	216.99	Normalna	Smeđa
NEG 06	217.99	Normalna	Smeđa
NEG 07	217.19	Normalna	Smeđa
NEG 08	223.52	Normalna	Smeđa
NEG 09	223.41	Normalna	Smeđa
NEG 10	217.83	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	221.77	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	218.35	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	218.73	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	223.72	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	214.32	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	212.31	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	211.36	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	222.35	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	221.75	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	222.98	Normalna	Svjetlija
PMA 01	223.97	Normalna	Svjetlija
PMA 02	221.52	Normalna	Svjetlija
PMA 03	217.85	Normalna	Svjetlija
PMA 04	221.43	Normalna	Svjetlija
PMA 05	212.37	Normalna	Svjetlija
PMA 06	219.56	Normalna	Svjetlija
PMA 07	212.56	Normalna	Svjetlija
PMA 08	223.75	Normalna	Svjetlija
PMA 09	217.56	Normalna	Svjetlija

PMA 10	216.39	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	216.89	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	221.04	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	217.80	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	219.18	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	213.76	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	219.12	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	219.08	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	219.17	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	223.43	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	219.82	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

8. tjedan (17. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	222.70	Normalna	Smeđa
NEG 02	221.11	Normalna	Smeđa
NEG 03	219.64	Normalna	Smeđa
NEG 04	218.91	Normalna	Smeđa
NEG 05	217.36	Normalna	Smeđa
NEG 06	218.37	Normalna	Smeđa
NEG 07	217.57	Normalna	Smeđa
NEG 08	223.85	Normalna	Smeđa
NEG 09	223.74	Normalna	Smeđa
NEG 10	218.21	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	222.09	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	218.67	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	219.05	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	224.03	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	214.65	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	212.62	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	211.69	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	222.67	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	222.07	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	223.31	Normalna	Svjetlija
PMA 01	224.29	Normalna	Svjetlija
PMA 02	221.84	Normalna	Svjetlija
PMA 03	218.19	Normalna	Svjetlija
PMA 04	221.75	Normalna	Svjetlija
PMA 05	212.70	Normalna	Svjetlija
PMA 06	219.89	Normalna	Svjetlija
PMA 07	212.90	Normalna	Svjetlija
PMA 08	224.08	Normalna	Svjetlija
PMA 09	217.89	Normalna	Svjetlija

PMA 10	216.73	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	217.26	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	221.39	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	218.14	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	219.56	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	214.12	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	219.50	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	219.46	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	219.56	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	223.76	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	220.16	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

9. tjedan (18. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	223.00	Normalna	Smeđa
NEG 02	221.40	Normalna	Smeđa
NEG 03	220.00	Normalna	Smeđa
NEG 04	219.30	Normalna	Smeđa
NEG 05	217.70	Normalna	Smeđa
NEG 06	218.70	Normalna	Smeđa
NEG 07	217.90	Normalna	Smeđa
NEG 08	224.20	Normalna	Smeđa
NEG 09	224.10	Normalna	Smeđa
NEG 10	218.50	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	222.40	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	219.00	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	219.40	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	224.35	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	215.00	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	212.95	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	212.02	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	223.00	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	222.40	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	223.63	Normalna	Svjetlija
PMA 01	224.60	Normalna	Svjetlija
PMA 02	222.15	Normalna	Svjetlija
PMA 03	218.50	Normalna	Svjetlija
PMA 04	222.09	Normalna	Svjetlija
PMA 05	213.00	Normalna	Svjetlija
PMA 06	220.20	Normalna	Svjetlija
PMA 07	213.25	Normalna	Svjetlija
PMA 08	224.40	Normalna	Svjetlija
PMA 09	218.20	Normalna	Svjetlija

PMA 10	217.05	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	217.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	221.70	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	218.50	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	219.90	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	214.50	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	219.80	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	219.75	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	219.88	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	224.10	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	220.50	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

10. tjedan (19. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	222.40	Normalna	Smeđa
NEG 02	220.98	Normalna	Smeđa
NEG 03	219.56	Normalna	Smeđa
NEG 04	218.78	Normalna	Smeđa
NEG 05	217.19	Normalna	Smeđa
NEG 06	218.16	Normalna	Smeđa
NEG 07	217.38	Normalna	Smeđa
NEG 08	223.68	Normalna	Smeđa
NEG 09	223.63	Normalna	Smeđa
NEG 10	217.95	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	221.74	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	218.31	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	218.82	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	223.61	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	213.30	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	211.52	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	210.65	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.45	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	220.73	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	221.95	Normalna	Svjetlija
PMA 01	223.15	Normalna	Svjetlija
PMA 02	220.82	Normalna	Svjetlija
PMA 03	216.32	Normalna	Svjetlija
PMA 04	220.56	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.87	Normalna	Svjetlija
PMA 06	218.80	Normalna	Svjetlija
PMA 07	212.19	Normalna	Svjetlija
PMA 08	222.80	Normalna	Svjetlija
PMA 09	217.20	Normalna	Svjetlija

PMA 10	215.78	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	216.36	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	220.92	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	216.70	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	218.19	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	211.94	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	218.62	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	218.56	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	218.61	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	222.92	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	219.43	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

11. tjedan (20. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	221.90	Normalna	Smeđa
NEG 02	220.64	Normalna	Smeđa
NEG 03	219.22	Normalna	Smeđa
NEG 04	218.49	Normalna	Smeđa
NEG 05	216.93	Normalna	Smeđa
NEG 06	217.82	Normalna	Smeđa
NEG 07	217.04	Normalna	Smeđa
NEG 08	223.37	Normalna	Smeđa
NEG 09	223.32	Normalna	Smeđa
NEG 10	217.61	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	221.39	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	217.93	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	218.45	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	223.21	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	212.98	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	211.20	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	210.32	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.07	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	220.36	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	221.61	Normalna	Svjetlija
PMA 01	222.74	Normalna	Svjetlija
PMA 02	220.41	Normalna	Svjetlija
PMA 03	215.98	Normalna	Svjetlija
PMA 04	220.15	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.46	Normalna	Svjetlija
PMA 06	218.39	Normalna	Svjetlija
PMA 07	211.79	Normalna	Svjetlija
PMA 08	222.40	Normalna	Svjetlija
PMA 09	216.80	Normalna	Svjetlija

PMA 10	215.34	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	215.97	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	220.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	216.38	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	217.85	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	211.58	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	218.30	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	218.25	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	218.29	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	222.62	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	219.12	Normalna	Svjetlija

Napomena: jedinke su vagane prvog dana u tjednu.

12. tjedan (21. tjedan života štakora)

Oznaka	Masa jedinke (g)	Konzistencija stolice	Boja stolice
NEG 01	221.47	Normalna	Smeđa
NEG 02	219.90	Normalna	Smeđa
NEG 03	218.41	Normalna	Smeđa
NEG 04	217.64	Normalna	Smeđa
NEG 05	216.03	Normalna	Smeđa
NEG 06	216.98	Normalna	Smeđa
NEG 07	216.21	Normalna	Smeđa
NEG 08	222.25	Normalna	Smeđa
NEG 09	222.20	Normalna	Smeđa
NEG 10	216.49	Normalna	Smeđa
TMAZ 01	220.92	Normalna	Svjetlija
TMAZ 02	217.42	Normalna	Svjetlija
TMAZ 03	217.94	Normalna	Svjetlija
TMAZ 04	222.70	Normalna	Svjetlija
TMAZ 05	213.34	Normalna	Svjetlija
TMAZ 06	211.55	Normalna	Svjetlija
TMAZ 07	210.67	Normalna	Svjetlija
TMAZ 08	221.46	Normalna	Svjetlija
TMAZ 09	220.74	Normalna	Svjetlija
TMAZ 10	221.96	Normalna	Svjetlija
PMA 01	223.40	Normalna	Svjetlija
PMA 02	221.02	Normalna	Svjetlija
PMA 03	216.53	Normalna	Svjetlija
PMA 04	220.77	Normalna	Svjetlija
PMA 05	211.97	Normalna	Svjetlija
PMA 06	218.90	Normalna	Svjetlija
PMA 07	212.30	Normalna	Svjetlija
PMA 08	222.95	Normalna	Svjetlija
PMA 09	217.33	Normalna	Svjetlija

PMA 10	215.91	Normalna	Svjetlija
LUDOX 01	213.91	Normalna	Svjetlija
LUDOX 02	220.68	Normalna	Svjetlija
LUDOX 03	216.46	Normalna	Svjetlija
LUDOX 04	217.95	Normalna	Svjetlija
LUDOX 05	210.65	Normalna	Svjetlija
LUDOX 06	218.60	Normalna	Svjetlija
LUDOX 07	218.53	Normalna	Svjetlija
LUDOX 08	218.59	Normalna	Svjetlija
LUDOX 09	222.94	Normalna	Svjetlija
LUDOX 10	219.46	Normalna	Svjetlija

Napomene: jedinke su vagane prvog dana u 22. tjednu života štakora, odnosno po isteku punih 12. tjedana pokusa – za vrijeme usmrćivanja i uzorkovanja, kada su vagani i organi.

Prilog 2. Rezultati vaganja organa.

Rezultati vaganja organa (provedeno prilikom žrtvovanja i uzorkovanja)

Masa (g)

Negativna kontrola; ne-tretirane (voda)

Štakor	NEG 01	NEG 02	NEG 03	NEG 04	NEG 05	NEG 06	NEG 07	NEG 08	NEG 09	NEG 10
Organ										
Bedrena kost	1.05	1.04	1.04	1.03	1.02	1.04	1.03	1.05	1.06	1.02
Jetra	6.4	6.35	6.31	6.29	6.24	6.33	6.25	6.42	6.45	6.23
Bubrezi (oba)	1.01	1.00	1.00	0.99	0.99	1.00	0.99	1.01	1.02	0.98
Tanko crijevo	7.89	7.83	7.78	7.75	7.70	7.80	7.70	7.92	7.95	7.68
Debelo crijevo	2.77	2.75	2.73	2.72	2.70	2.74	2.70	2.78	2.79	2.70
Mozak	1.23	1.22	1.21	1.21	1.20	1.22	1.20	1.23	1.24	1.20
Masa životinje	221.47	219.90	218.41	217.64	216.03	216.98	216.21	222.25	222.20	216.49

Tretirane prirodnim jednostruko aktiviranim zeolitom (TMAZ)

Štakor	TMAZ 01	TMAZ 02	TMAZ 03	TMAZ 04	TMAZ 05	TMAZ 06	TMAZ 07	TMAZ 08	TMAZ 09	TMAZ 10
Organ										
Bedrena kost	1.05	1.03	1.03	1.06	1.00	1.00	1.00	1.05	1.04	1.05
Jetra	6.38	6.28	6.30	6.44	6.12	6.09	6.09	6.40	6.38	6.41
Bubrezi (oba)	1.01	0.99	0.99	1.02	0.98	0.96	0.96	1.01	1.02	1.01
Tanko crijevo	7.87	7.75	7.76	7.93	7.53	7.54	7.51	7.89	7.86	7.91
Debelo crijevo	2.76	2.72	2.73	2.79	2.64	2.65	2.63	2.77	2.76	2.78
Mozak	1.23	1.21	1.21	1.24	1.19	1.17	1.17	1.23	1.23	1.23
Masa životinje	220.92	217.42	217.94	222.70	213.34	211.55	210.67	221.46	220.74	221.96

Tretirane prirodnim dvostruko aktiviranim zeolitom (PMA-zeolit)

Štakor	PMA 01	PMA 02	PMA 03	PMA 04	PMA 05	PMA 06	PMA 07	PMA 08	PMA 09	PMA 10
Organ										
Bedrena kost	1.06	1.05	1.03	1.05	1.00	1.04	1.01	1.06	1.03	1.02
Jetra	6.46	6.39	6.26	6.38	6.13	6.33	6.14	6.44	6.28	6.24
Bubrezi (oba)	1.02	1.01	0.99	1.01	0.97	1.00	0.97	1.02	0.99	0.98
Tanko crijevo	7.96	7.87	7.71	7.87	7.55	7.80	7.56	7.94	7.74	7.69
Debelo crijevo	2.79	2.76	2.71	2.76	2.65	2.74	2.66	2.79	2.72	2.70
Mozak	1.24	1.23	1.20	1.23	1.18	1.22	1.18	1.24	1.21	1.20
Masa životinje	223.40	221.02	216.53	220.77	211.97	218.90	212.30	222.95	217.33	215.91

Tretirane koloidnim silikatom (Ludox AS-40)

Štakor	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX	LUDOX
Organ	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10
Bedrena kost	1.01	1.05	1.03	1.03	1.00	1.04	1.04	1.04	1.06	1.04
Jetra	6.18	6.38	6.26	6.30	6.09	6.32	6.32	6.32	6.44	6.34
Bubrezi (oba)	0.98	1.01	0.99	0.99	0.96	1.00	1.00	1.02	1.02	1.00
Tanko crijevo	7.62	7.86	7.71	7.76	7.50	7.79	7.79	7.80	7.94	7.82
Debelo crijevo	2.68	2.76	2.71	2.73	2.63	2.73	2.73	2.75	2.79	2.74
Mozak	1.19	1.23	1.20	1.21	1.17	1.21	1.21	1.23	1.24	1.22
Masa životinje	213.91	220.68	216.46	217.95	210.65	218.60	218.53	218.59	222.94	219.46

9. POPIS PUBLIKACIJA

Znanstveni radovi (12)

1. Slivšek, Goran; Mijač, Sandra; **Dolanc, Ivan**; Fabijanec, Marija; Petković, Silvija; Mautner, Renato; Lončarek, Karmen; Kranjčić, Josip; Boban Blagaić, Alenka; Marinović, Marin et al. Oxidative Stress and Down Syndrome: A Systematic Review // *Antioxidants*, 14 (2025), 7; 816, 31. DOI: 10.3390/antiox14070816 (Q1, IF 6.6)
2. Jonjić, Antonija; **Dolanc, Ivan**; Slivšek, Goran; Bočkor, Luka; Tarle, Marko; Mustapić, Sanda; Kmet, Marta; Orehovec, Biserka; Kučan Brlić, Paola; Cokarić Brdovčak, Maja et al. Relationship between gut microbiota and the clinical course of COVID-19 disease // *Viruses*, 17 (2025), 4; 520, 19. DOI: 10.3390/v17040520 (Q1, IF 3.5)
3. Zekan P, Ljubičić N, Blagaić V, **Dolanc I**, Jonjić A, Čoklo M, Boban Blagaić A. Pharmacokinetic Analysis of Ethanol in a Human Study: New Modification of Mathematic Model. *Toxics* 2023, 11(9), 793. DOI: doi.org/10.3390/toxics11090793 (Q1, IF 4.6)
4. **Dolanc, Ivan** ; Ferhatović Hamzić, Lejla ; Orct, Tatjana ; Micek, Vedran ; Šunić, Iva ; Jonjić, Antonija, Jurasović, Jasna ; Missoni, Saša ; Čoklo, Miran ; Kraljević Pavelić, Sandra. The Impact of Long-Term Clinoptilolite Administration on the Concentration Profile of Metals in Rodent Organisms// *Biology*, 12 (2023) 2 ; str. 193-211 . 10.3390/biology12020193. SCIE (WoS) (Q1, IF 4.2)
5. Mertens, Elly ; Sagastume, Diana ; Sorić, Tamara ; Brodić, Ivona ; **Dolanc, Ivan** ; Jonjić, Antonija ; Delale, Eva Anđela ; Mavar, Mladen ; Missoni, Saša ; Čoklo, Miran et al. Food Choice Motives and COVID-19 in Belgium// *Foods*, 11 (2022) 6 ; 842, 12 . 10.3390/foods11060842 (izvorni znanstveni rad) SCIE (WoS) (Q1, IF 5.2)
6. Peñalvo JL, Mertens E, Ademović E, Akgun S, Baltazar AL, Buonfrate D, Čoklo M, Devleesschauwer B, Diaz Valencia PA, Fernandes JC, Gómez EJ, Hynds P, Kabir Z, Klein J, Kostoulas P, Llanos Jiménez L, Lotrean LM, Majdan M, Menasalvas E, Nguewa P, Oh IH, O'Sullivan G, Pereira

- DM, Reina Ortiz M, Riva S, Soriano G, Soriano JB, Spilki F, Tamang ME, Trofor AC, Vaillant M, Van Ierssel S, Vuković J, Castellano JM; **unCoVer network**. Unravelling data for rapid evidence-based response to COVID-19: a summary of the unCoVer protocol. *BMJ Open*. 2021 Nov 18;11(11):e055630. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-055630. (izvorni znanstveni rad) SCIE (WoS) (Q2, IF 3.007)
7. **Dolanc, Ivan**; Brodić, Ivona; Sorić, Tamara; Jonjić, Antonija; Čaljkušić-Mance, Tea; Bočkor, Luka; Čoklo, Miran. Metabolic syndrome and gut microbiota - a review // *Journal of hygienic engineering and design*, 36 (2021), 185-191.
 8. Sorić, Tamara ; Brodić, Ivona ; Mertens, Elly ; Sagastume, Diana ; **Dolanc, Ivan** ; Jonjić, Antonija ; Delale, Eva Anđela ; Mavar, Mladen ; Missoni, Saša ; Peñalvo, José L. et al. Evaluation of the Food Choice Motives before and during the COVID-19 Pandemic: A Cross-Sectional Study of 1232 Adults from Croatia// *Nutrients*, 13 (2021) 9 ; 3165, 18 . 10.3390/nu13093165 (izvorni znanstveni rad) SCIE (WoS) (Q1, IF 6.706)
 9. Delale, Eva Anđela; Novokmet, Natalija; Fuchs, Nives; **Dolanc, Ivan**; Mrdjen-Hodžić, Rafaela; Karelović, Deni; Janković, Stipan; Musić Milanović, Sanja; Cameron, Noel; Missoni, Saša. Stress, locus of control, hope and depression as determinants of quality of life of pregnant women: Croatian Islands' Birth Cohort Study (CRIBS) // *Health Care for Women International*, 42 (2021), 12; 1358-1378. DOI: 10.1080/07399332.2021.1882464 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni) SSCI (WoS) (Q3, IF 1.373)
 10. Carić, Tonko; Bočkor, Luka; **Dolanc, Ivan**; Zajc Petranović, Matea; Havaš Auguštin, Dubravka; Šarac, Jelena; Novokmet, Natalija; Fuchs, Nives; Brozović Krijan, Antonija; Čoklo, Miran; Missoni, Saša. Maternal Physical Activity in Pregnancy and Newborns' Anthropometry - Preliminary CRIBS Data. // *Collegium antropologicum*, 42 (2018), 1; 21-25 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)
 11. Fuchs, Nives; Novokmet, Natalija; Lela, Ivana; Zajc Petranović, Matea; Havaš Auguštin, Dubravka; Šarac, Jelena; Carić, Tonko; **Dolanc, Ivan**; Karelović, Deni; Škrabić, Veselin et al. Impact of pre-pregnancy BMI on blood glucose levels in pregnancy and on the anthropometry of newborns

- preliminary insights from the Croatian Islands' Birth Cohort Study (CRIBS). // Collegium antropologicum, 42 (2018), 2; 89-93.
12. Prkić, Ante; Mitar, Ivana; Giljanović, Josipa; Sokol, Vesna; Bošković, Perica; **Dolanc, Ivan**; Vukušić, Tina. Comparison of Potentiometric and ETAAS Determination of Copper and Iron in Herbal Samples. // International journal of electrochemical science, 13 (2018), 10; 9551-9560 doi:10.20964/2018.10.18.

Kongresna priopćenja (21)

1. Slivšek, Goran; Mijač, Sandra; Matković, Nives; Fabijanec, Marija; **Dolanc, Ivan**; Marinović, Marin; Petković, Silvija; Mautner, Renato; Verbanac, Donatella; Čoklo, Miran. Thymoquinone as a Potential Antimicrobial Agent against Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: A Computational Chemistry Approach // Program and Abstracts Book of the 3rd International Electronic Conference on Microbiology. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2025. str. 67-67.
2. Slivšek, Goran; Matković, Nives; **Dolanc, Ivan**; Mijač, Sandra; Marinović, Marin; Petković, Silvija; Čoklo, Miran. The Antibacterial Potential of the Bioactive Cinnamon Compound Trans-cinnamaldehyde against *Pseudomonas aeruginosa*: A Computational Biology and Chemistry Perspective // Program and Abstract Book of the 5th International Electronic Conference on Foods. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2024. str. 346-346.
3. Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**; Jonjić, Antonija; Slivšek, Goran; Obad, Ante. Analytical Chemistry in Anthropological Research – INANTRO Perspective // Journal of bioanthropology, 4, 2, 2024. str. 46-46.
4. Jonjić, Antonija; **Dolanc, Ivan**; Slivšek, Goran; Tarle, Marko; Mustapić, Sanda; Kmet, Marta; Orehovec, Biserka; Kučan Brlić, Paola; Cokarić Brdovčak, Maja; Obad, Ante et al. Relationship between Gut Microbiota and the Clinical Course of COVID-19 Disease // Journal of bioanthropology, 4, 1, 2024. str. 142-142.
5. **Dolanc, Ivan**; Slivšek, Goran; Ražnjević, Nives; Mijač, Sandra; Brstilo, Nevija; Čoklo, Miran. The Evaluation of the Antibacterial Efficacy and

- Drug Safety of Thymoquinone against *Acinetobacter baumannii*: Utilising Bioinformatics and Cheminformatics Methods in Microbiology // Program and Abstracts Book of the 3rd International Electronic Conference on Biomolecules. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2024. str. 202-202.
6. **Dolanc, Ivan**; Slivšek, Goran; Ražnjević, Nives; Mijač, Sandra; Jonjić, Antonija; Čoklo, Miran. The Antibacterial Efficacy and Drug Safety Profile of *Trans*-cinnamaldehyde against *Acinetobacter baumannii*: Bioinformatics and Cheminformatics Approach // Proceedings, 102, 1, 2024, 11, 2. DOI: 10.3390/proceedings2024102011.
 7. Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**; Jonjić, Antonija; Šarac, Jelena; Bočkor, Luka; Novokmet, Natalija; Tarle, Marko; Mustapić, Sanda; Kmet, Marta; Orehovec, Biserka et al. Unravelling data for rapid evidence-based response to COVID-19 - inantro experience from the uncover project // Journal of Bioanthropology, 2 (2022), 1 / Primorac, Dragan ; Vuk–Pavlović, Stanimir ; Kayser, Manfred ; Ordog, Tamas (ur.).Zagreb: Institute for Anthropological Research ; International Society for Applied Biological Sciences (ISABS, 2022. str. 314-314. DOI: 10.54062/jb (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, stručni).
 8. Sorić, Tamara ; Brodić, Ivona ; Mertens, Elly ; Sagastume, Diana ; **Dolanc, Ivan** ; Jonjić, Antonija ; Delale, Eva Anđela ; Mavar, Mladen ; Missoni, Saša ; Peñalvo, José Luis et al. Differences in the food choice motives before and during the covid-19 pandemic depending on covid-19 infection and vaccination status: a cross- sectional study of adults from Croatia// Book of Abstracts of the 8th International Congress of Nutritionists/ 2022. str. 104-104 . (sažetak izlaganja sa skupa).
 9. Sorić, Tamara; Brodić, Ivona; Mertens, Elly; Sagastume, Diana; **Dolanc, Ivan**; Jonjić, Antonija; Delale, Eva Anđela; Mavar, Mladen; Missoni, Saša; Peñalvo, José Luis; Čoklo, Miran. Differences in the food choice determinants before and during the COVID-19 pandemic in the adult population of Croatia and Belgium (CFC CRO-BE): a study concept // Book of abstracts of the 13th International scientific and professional conference "With food to health" / Babić, Jurislav ; Šubarić, Drago ; Jašić,

- Midhat (ur.). Osijek: Studio HS internet, 2021. str. 30-30 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, ostalo).
10. Delale, Eva Anđela; Novokmet, Natalija; Nives Fuchs, Nives; Havaš Auguštin, Dubravka; Pribačić, Vanda; **Dolanc, Ivan**; Missoni, Saša. Hope of Mothers during Pregnancy and in the Postpartum Period // International Union of Anthropological and Ethnological Sciences – IUAES Congress 2020, Book of abstracts, Coming of Age on Earth: Legacies and Next Generation Anthropology Šibenik, Hrvatska: Institut za antropologiju, 2021. str. 180-180 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
 11. Havaš Auguštin, Dubravka; Šarac, Jelena; Zajc Petranović, Matea; Novokmet, Natalija; **Dolanc, Ivan**; Carić, Tonko; Demerath, Ellen W; Cameron, Noel; Missoni, Saša. Association of pre-pregnancy BMI with biochemical profile during pregnancy, delivery mode and size of neonates in the CRIBS birth cohort. // 13th European Nutrition Conference - Malnutrition in an Obese World: European Perspectives Dublin: Federation of European Nutrition Societies (FENS), 2019. str. 1-1 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, ostalo).
 12. Sorić, Tamara; Molnar, Dunja; **Dolanc, Ivan**; Bočkor, Luka; Šarac, Jelena; Čoklo, Miran. The relationship between processed food dietary pattern and depression in adults // 12th International Scientific and Professional Conference WITH FOOD TO HEALTH / Jozinović, Antun ; Ačkar, Đurđica ; Babić, Jurislav ; Jašić, Midhat ; Šubarić, Drago (ur.). Osijek, 2019. str. 41-51 (poster, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni).
 13. Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**; Carić, Tonko; Brozović Krijan, Antonija; Bočkor, Luka; Missoni, Saša. Birth Cohort as a Tool for Exposing the Transgenerational Exposome – CRIBS Study Example // Book of Abstracts EAA 2018, Odense, Danska, 2018. str. 21-21 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
 14. Bočkor, Luka; **Dolanc, Ivan**; Carić, Tonko; Šarac, Jelena; Novokmet, Natalija; Čoklo, Miran; Missoni, Saša. CRIBS cohort: a base for family-based disease risk prediction. // Book of Abstracts EAA 2018, Odense,

- Danska, 2018. str. 18-19 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
15. **Dolanc, Ivan**. Why are heavy metals important to be monitored in birth cohort studies // 37th Anthropology and Health Conference 2018, Hvar, Croatia - Birth Cohorts and Intervention Strategies for Healthy Pregnancy Insights from the CRIBS Study and other Birth Cohorts, Hvar, Hrvatska, 2018. (predavanje, međunarodna recenzija, neobjavljeni rad, znanstveni).
 16. Sorić, Tamara; Dragičević, Ivona; **Dolanc, Ivan**; Šarac, Jelena; Čoklo, Miran. MERCURY AND METABOLIC SYNDROME COMPONENTS – A REVIEW OF THE LITERATURE // Book of Abstracts - 36th ANTHROPOLOGY AND HEALTH CONFERENCE Anthropology in the Service of Global Health, Dubrovnik, Hrvatska, 2017. str. 61-61 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).
 17. Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**; Bočkor, Luka. Međusobni utjecaj fizičke aktivnosti i teških metala. // Zbornik sažetaka 3. međunarodnog znanstveno- stručnog skupa „Fizioterapija u sportu, rekreaciji i wellnessu“ / Smoljić, Mirko (ur.), Vukovar: Veleučilište „Lavoslav Ružička“ u Vukovaru, 2017. str. 12-13 (pozvano predavanje, međunarodna recenzija, prošireni sažetak, znanstveni).
 18. Missoni, Saša; Zajc Petranović, Matea; Havaš Auguštin, Dubravka; Novokmet, Natalija; Šarac, Jelena; Perinić Lewis, Ana; Pribačić Ambrožić, Vanda; Bočkor, Luka; Carić, Tonko; **Dolanc, Ivan** et al. Croatian islands' birth cohort study – CRIBS (2015 – 2018) Maternal dietary intake during pregnancy and newborns` anthropometry at birth – the preliminary results from the CRIBS study // XIV International Congress of Auxology - For a healthy growth in a better world : abstracts / Lejarraga, Horacio (ur.), Buenos Aires: International Association for the Study of Human Growth and Clinical Auxology, 2017. str. 69-69 (predavanje, međunarodna recenzija, prošireni sažetak, znanstveni).
 19. Carić, Tonko; **Dolanc, Ivan**; Bočkor, Luka; Zajc Petranović, Matea; Havaš Auguštin, Dubravka; Novokmet, Natalija; Šarac, Jelena; Čoklo, Miran; Missoni, Saša. Utječe li fizička aktivnost majke tijekom trudnoće na antropometriju djeteta? Preliminarni rezultati studije CRIBS. // Zbornik

- sažetaka 3. međunarodnog znanstveno- stručnog skupa „Fizioterapija u sportu, rekreaciji i wellnessu“ / Smoljić, Mirko (ur.), Vukovar: Veleučilište „Lavoslav Ružička“ u Vukovaru, 2017. str. 19-21 (predavanje, međunarodna recenzija, prošireni sažetak, znanstveni).
20. Sindik, Joško; Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**. POKAZATELJI ZDRAVLJA KOD HRVATSKIH SOFTBALL IGRAČA (PRIKUPLJENIH RUTINSKIM MEDICINSKIM PREGLEDIMA) // Zbornik radova 2. Međunarodni znanstveno- stručni skup “Fizioterapija u sportu, rekreaciji i wellnessu” / Smoljić, Mirko ; Janković, Slavica (ur.), Vukovar: Veleučilište Lavoslav Ružička u Vukovaru, 2016. str. 199-210 (predavanje, međunarodna recenzija, cjeloviti rad (in extenso), znanstveni).
21. Sindik, Joško; Čoklo, Miran; **Dolanc, Ivan**. Pokazatelji zdravlja kod hrvatskih softball igrača (prikupljenih rutinskim medicinskim pregledima) // ZBORNİK SAŽETAKA/BOOK OF ABSTRACTS - 2. MEĐUNARODNI ZNANSTVENO-STRUČNI SKUP „FIZIOTERAPIJA U SPORTU, REKREACIJI I WELLNESSU “/2nd INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PROFESSIONAL CONFERENCE “PHYSIOTHERAPY IN SPORTS, RECREATION AND WELLNESS” / Smoljić, Mirko; Janković, Slavica (ur.), Vukovar: VELEUČILIŠTE „LAVOSLAV RUŽIČKA“ U VUKOVARU/COLLEGE OF APPLIED SCIENCES „LAVOSLAV RUŽIČKA“ IN VUKOVAR, 2016. str. 43-44 (predavanje, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni).

Poglavlja u knjizi (3)

1. Čoklo, Miran ; Jonjić, Antonija ; **Dolanc, Ivan** ; Kraljević Pavelić, Sandra. Effects of Contaminants (Heavy Metals) on the Microbiota// Human-Gut Microbiome Establishment and Interactions/ Goel, Gunjan ; Requena, Teresa ; Bansal, Saurabh (ur.). Amsterdam: Elsevier, 2022. str. 303-311. (izvorni znanstveni rad).
2. Čoklo, Miran ; Jonjić, Antonija ; **Dolanc, Ivan**. Pathways of Medicine// Novel Perspectives in Economics of Personalized Medicine and Healthcare Systems/ Škare, Marinko ; Pržiklas Družeta, Romina ;

Kraljević Pavelić, Sandra (ur.). New York (NY): Nova Science Publishers, 2022. str. 53-66. DOI:10.52305/IMRM1661 (izvorni znanstveni rad)

3. Barić, Asja; **Dolanc, Ivan**; Haničar, Elizabeta; Pavlović, Nataša; Španić, Damir; Udiljak-Bugarinovski, Zrinka. Prostorne prepreke - prilagodbe i rješenja // Prostorna pristupačnost / Haničar, Elizabeta (ur.), Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, 2012. str. 43-156

10. ŽIVOTOPIS

Ivan Dolanc

OBRAZOVANJE

2016. - trenutno Doktorski sveučilišni studij „Medicinska kemija“, Odjel za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

2010. – 2012. Diplomski studij, Forenzika i nacionalne sigurnosti, Sveučilišni studijski centar za forenzične znanosti Sveučilišta u Splitu, Split

2006. – 2010. Preddiplomski sveučilišni studij Kemijske tehnologije, smjer kemijsko inženjerstvo.

RADNO ISKUSTVO

2023. – trenutno viši stručni suradnik, Institut za antropologiju, Zagreb

2020. – trenutno administrator Centra za primijenjenu bioantropologiju, Institut za antropologiju, Zagreb

2016. – 2023. stručni suradnik, institut za antropologiju, Zagreb

2014. – 2016. CROATIA zdravstveno osiguranje, Vukovarsko-srijemska i Požeško-slavonska županija

SUDJELOVANJE NA PROJEKTIMA

2024. – 2026. voditelj INANTRO projektnog tima „Analiza Točnosti mEdijskih NapisA (ATENA)“ (NPOO C1.1.1. R6-I2, voditelj projekta: doc.dr.sc. Gordan Akrap, Institut za istraživanje hibridnih sukoba (IIHS)).

2021.-2023. član istraživačkog tima, “The impact of COVID-19 pandemic on the determinants of food choice in the adult population of Croatia and Belgium (CFC CRO-BE)” (su-voditelji: Miran Čoklo, Institut za antropologiju, Zagreb; Jose Luis Peñalvo, Institute of Tropical Medicine, Antwerpen; Tamara Sorić, Psihijatrijska bolnica Ugljan) (međunarodni kolaborativni projekt).

2020.-2023. član istraživačkog tima, „Unravelling Data for Rapid Evidence-Based Response to COVID-19 (unCoVer)” (HORIZON 2020, voditelj projekta: Jose Penalvo, voditelj INANTRO projektnog tima: Miran Čoklo).

2018.-2020. član projektnog tima, "Foundation of „Centre for Applied Bioanthropology (BIOANT)“ (European fund for regional development; EU contribution: more than 22 million kn; PI: prof. Damir Marjanović).

2017. – 2019. član istraživačkog tima, „Croatian Island's Birth Cohort Study – CRIBS“ (HRZZ, UIP-09-2014, voditelj projekta doc.dr.sc. Saša Missoni).

2017. – 2018. član istraživačkog tima, „Istraživanje ravnoteže mikrobioma debelog crijeva – MicroEquilibrium“ (HRZZ, IP-2016-06-3509, voditelj projekta izv.prof.dr.sc. Antonio Starčević).

2010. – 2012. član radne skupine, „ EduQuality – Education for Equal Opportunities at Croatian Universities“.

PREDAVANJA NA MEĐUNARODNIM KONFERENCIJAMA

2018. 37th Anthropology and Health Conference 2018, Hvar, Croatia - Birth Cohorts and Intervention Strategies for Healthy Pregnancy Insights from the CRIBS Study and other Birth Cohorts

Pozvano predavanje na temu „Why are heavy metals important to be monitored in birth cohort studies“.

ORGANIZACIJA KONGRESA, SKUPOVA I RADIONICA

2024. član organizacijskog tima međunarodnog znanstvenog kongresa 23rd EAA (Anthropology in the Anthropocene: Exploring Human Influence On The Global Ecosystem) i 16th ISGA (Human growth and development: scientific advances and applications for clinical practice and population health)

2021. član organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog skupa „12th ISABS Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine“

2021. tajnik međunarodnog kongresa: IUAES Congress 2020: Coming of Age on Earth: Legacies and Next Generation Anthropology

2020. član organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog skupa “15. međunarodna konferencija auksologije: Growth and Health – A Life Course Perspective (International Society for the Study of Human Growth and Clinical Auxology – ISGA)”, 2022., Šibenik.

2019. član organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog skupa „11th ISABS Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine“

2018.-2020. zamjenik člana Radne skupine za konkurentnost i industrijski razvoj te razvoj poduzetništva i obrta za izradu Nacionalne razvojne strategije do 2030. godine.

2017. član organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog skupa „10th ISABS Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine“

2017. član organizacijskog odbora znanstvenog skupa “Anthropology and Health “

2017. član organizacijskog odbora “Škola biološke antropologije”

2013. član organizacijskog odbora međunarodnog znanstvenog skupa „8th ISABS Conference on Forensic and Anthropologic Genetics and Mayo Clinic Lectures in Individualized Medicine“

2010. – 2013. član radne skupine EduQuality- Education for Equal Opportunities at Croatian Universities

ČLANSTVA U ZNANSTVENIM I STRUČNIM UDRUŽENJIMA

European Anthropological Association (EAA)

International Society for Applied Biological Sciences (ISABS)

Svjetski institut za nuklearnu sigurnost (WINS – World Institute for Nuclear Security)

Organizacija za europsku sigurnost i suradnju (OSCE – Organization for Security and Co-operation in Europe)

Matica hrvatska (Ogranak Vinkovci)

ZNANSTVENE/STRUČNE NAGRADE

2025. Nagrada za usmeno izlaganje: Slivšek, Goran; Mijač, Sandra; Matković, Nives; Fabijanec, Marija; Dolanc, Ivan; Marinović, Marin; Petković, Silvija; Mautner, Renato; Verbanac, Donatella; Čoklo, Miran. Thymoquinone as a Potential Antimicrobial Agent against Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: A Computational Chemistry Approach // Program and Abstracts

Book of the 3rd International Electronic Conference on Microbiology. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2025. str. 67-67.

2024. Nagrada za usmeno izlaganje: Slivšek, Goran; Matković, Nives; Dolanc, Ivan; Mijač, Sandra; Marinović, Marin; Petković, Silvija; Čoklo, Miran. The Antibacterial Potential of the Bioactive Cinnamon Compound Trans-cinnamaldehyde against *Pseudomonas aeruginosa*: A Computational Biology and Chemistry Perspective // Program and Abstract Book of the 5th International Electronic Conference on Foods. Basel: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2024. str. 346-346.