

**UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ana V. Ćirović

**Ispitivanje odnosa stepena stenoze prednje
nishodne grane leve koronarne arterije sa
koncentracijama metala i metaloida u tkivu
miokarda leve komore**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE**

Ana V. Ćirović

**Examination of the relationship between the
degree of stenosis of the anterior descending
branch of the left coronary artery and the
concentrations of metals and metalloids in the
myocardial tissue of the left ventricle**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023

**UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ana V. Ćirović

**Ispitivanje odnosa stepena stenoze prednje
nishodne grane leve koronarne arterije sa
koncentracijama metala i metaloida u tkivu
miokarda leve komore**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

Mentor doktorske disertacije:

Prof. Dr. Nebojša Tasić, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

Prof. dr. Siniša Stojković, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr. Laslo Puškaš, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr. Vladimir Jakovljević, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu

Želim da iskoristim ovu priliku da izrazim svoju duboku zahvalnost profesoru Nebojši Tasiću na neizmernoj podršci koju sam dobila tokom pripreme ove doktorske teze. Njegova stručnost i posvećenost su mi omogućili da rastem kao istraživač i lekar.

Mentorstvo profesora Tasića mi je bila inspiracija da prevaziđem izazove i istrajem u istraživanju koje će, nadam se, doprineti našem akademskom uzdizanju. Njegova otvorenost za dijalog i konstruktivna kritika usmeravali su me i inspirisali ka novim istraživanjima, kao i boljem razumevanju predmeta našeg istraživanja.

Zahvaljujem se i članovima komisije:

- *Prof. dr Siniši Stojkoviću,*
- *Prof. dr Laslu Puškašu,*
- *Prof. dr Vladimiru Jakovljeviću,*

Na pomoći u realizaciji disertacije.

Ovu tezu posvećujem kćerci Mili, suprugu Aleksandru, majci Oliveri, i ocu Veljku, bez čije ljubavi ovoga ne bi ni bilo.

Beograd, 2023

Takođe, veliku zahvalnost dugujem profesorki Biljani Antonijević i profesorki Aleksandri Buhi Đorđević sa Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, zatim Saši Jankoviću i Zoranu Petroviću, naučnim saradnicima Instituta za higijenu i tehnologiju mesa iz Beograda, koji su mi nesebično pomogli prilikom merenja prikupljenih uzoraka.

Profesor Danijela Tasić sa Medicinskog fakulteta u Banjaluci, i Profesor Orish E. Orisakwe, sa Univerziteta u Port Harcourtu, svojim kritikama u toku pisanja radova značajno su doprineli poboljšanju kvaliteta publikovanih radova.

Ovim putem želim da se zahvalim i dr Jovanu Jevtiću sa Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, koji je marljivo prikupljao uzorke miokarda.

Na kraju želim da se zahvalim dr Aleksandru Ćiroviću sa Instituta za anatomiju koji je pomogao prilikom statističke obrade podataka i prikupljanja uzoraka.

ISPTIVANJE ODNOSA STEPENA STENOZE PREDNJE NISHODNE GRANE LEVE KORONARNE ARTERIJE SA KONCENTRACIJAMA METALA I METALOIDA U TKIVU MIOKARDA LEVE KOMORE

SAŽETAK

Uvod: Po broju novoobolelih, kako u svetu, tako i u Srbiji, kardiovaskularna oboljenja zauzimaju centralno mesto. Veza između ekspozicije različitim metalima i metaloidima iz okruženja i nastanka različitih kardioloških oboljenja je neosporna, ali nedovoljno istražena. U današnje vreme čovek je izložen različitim metalima i metaloidima tokom svakodnevnih aktivnosti; sve vrste namirnica koje se koriste u ishrani, zatim duvan, kozmetika i aerozagađenje, sadrže u različitim koncentracijama mnoge metale i metaloide, posebno uključujući teške metale. Dosadašnje znanje bazirano na rezultatima *in vivo* studija ukazuje da su neki teški metali, poput arsena, kadmijuma i olova izuzetno kardiotoksični. Važno je istaći da je stepen toksičnog dejstva ovih teških metala u direktnoj korelaciji sa dužinom ekspozicije, kao i sa koncentracijama navedenih metala kojima je čovek izložen. Takođe je pokazano da neki teški metali mogu da se nađu u povišenim koncentracijama u krvi i/ili urinu kod osoba sa određenim kardiološkim oboljenjima poput ishemijske bolesti srca ili nekih tipova kardiomiopatije. Većina metala i metaloida se deponuje u miokardu u određenom obimu; međutim, mehanizmi koji utiču na pojačano nakupljanje istih nisu dovoljno istraženi. Takođe je malo poznato da li se različiti metali i metaloidi nakupljaju u tkivu miokarda homogeno ili su neki delovi tkiva podložniji nakupljanju. Disproporcija u snabdevanju kiseonikom kod ishemijske bolesti srca koja se javlja u miokardu distalno od stenozе u odnosu na tkivo miokarda proksimalno od stenozе može da rezultuje hipoksijom miokarda. Hipoksija dovodi do pojačane ekspresije transferinskog receptora 1 (transferrin receptor 1; TfR1), kao i proteina koji se naziva divalentni metalni transporter-1 (divalent metal transporter-1), koji mogu da doprinesu ubrzanom nakupljanju teških metala distalno od stenozе.

Ciljevi teze: Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita da li se kadmijum, olovo, arsen, živa, nikl, bakar, gvožđe, mangan, cink, kalcijum i magnezijum nakupljaju homogeno u tkivu miokarda leve komore. Zatim smo želeli da ispitamo da li se navedeni metali i metaloidi nakupljaju u većem obimu distalno od stenozе prednje međukomorne grane (prednje nishodne grane) leve koronarne arterije, koja je procenjivana makroskopski; takođe smo hteli da ispitamo da li povišene vrednosti pojedinih pokazatelja zapaljenskog procesa u organizmu, kao što su C-reaktivni protein (CRP) i ukupan broj leukocita, koreliraju sa koncentracijama metala distalno od stenozе. Na kraju, hteli smo da ispitamo da li osobe kod kojih su dijagnostikovana određena oboljenja, poput koronarne bolesti srca, kardiomiopatije, srčane insuficijencije ili hronične bubrežne insuficijencije, imaju povećane/snižene vrednosti pojedinih metala u miokardu leve komore.

Materijal i metode: Naša studija je organizovana po tipu studije preseka. Prikupili smo 90 uzoraka tkiva miokarda leve komore [od 62 osobe oba pola (35 muškaraca i 27 žena), starijih od 30 godina] na Institutu za anatomiju i Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Prvi deo eksperimenta je rađen na uzorcima prikupljenim na Institutu za anatomiju (n=20; od deset osoba) i podrazumevao je ispitivanje homogenosti taloženja metala unutar tkiva miokarda leve komore. Debljina međukomorske pregrade merena je kaliperom na Institutu za anatomiju. Drugi deo eksperimenta je rađen na uzorcima prikupljenim na Institutu za patologiju (n=36; od 18 osoba), gde smo utvrđivali da li stenozа koronarne arterije utiče na pojačano nakupljanje metala i metaloida distalno od stenozе. Stenozа prednje

međukomorne grane leve koronarne arterije je procenjivana makroskopski u toku obdukcije po već utvrđenim principima i klasifikovana kao laka, srednje teška i teška. Uzorke osoba koje imaju neku urođenu srčanu manu, urođene bolesti metabolizma (na primer, hemohromatoza), primarne kardiomiopatije, isključili smo iz daljeg istraživanja. Svi podaci vezani za ispitanike od kojih smo uzimali uzorak su prikupljeni iz istorija bolesti i obdukcioni nalaza (komorbiditeti, CRP, broj leukocita i ostalo). Iz uzoraka srčanog tkiva merili smo koncentracije toksičnih i netoksičnih metala i metaloida (kadmijum, olovo, arsen, živa, nikl, bakar, gvožđe, mangan, cink, kalcijum i magnezijum). Treći deo eksperimenta je podrazumevao i analizu metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore u odnosu na prisustvo nekih srčanih oboljenja (ishemijska bolest srca, kardiomiopatije i srčana insuficijencija) i oboljenja bubrega (hronična bubrežna insuficijencija) (n=52, uključujući 18 iz prethodnog cilja). Etički odbor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu odobrio je prikupljanje uzoraka.

Masena spektrometrija

Merenje induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom (ICP-MS) obuhvatalo je sledeće korake: uzimanje uzoraka sa leševa, odmrzavanje, digestiju vlažnih tkivnih uzoraka sa HNO₃ i H₂O₂, mikrotalasnu digestiju, razblaženje, i analizu elemenata (Mg, Ca, Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Hg, As) pomoću masenog spektrometra iCap Q. Režim KED je korišćen kako bi se eliminisale greške u određivanju gvožđa. Standardni kalibracioni rastvori su korišćeni za pripremu kalibracionih krivih, dok je višeelementni interni standard uveden onlajn. Svi rastvori su pripremljeni u 2% azotnoj kiselini. Metoda je validirana prema AOAC smernicama i akreditovana prema ISO 17025. Kvalitet analitičkog procesa je potvrđen analizom referentnih materijala NIST 1577c i ERM-BB384, a izmerene koncentracije su bile u opsegu sertifikovanih vrednosti.

Rezultati: U prvom delu teze, ispitivali smo da li se metali i metaloidi nakupljaju uniformno (homogeno) unutar miokarda leve komore. Naši rezultati ukazuju da se olovo i arsen ne nakupljaju uniformno, već se ovaj metal i metaloid talože u većim koncentracijama unutar vrha leve komore u poređenju sa bazom leve komore. Utvrdili smo da postoji značajna pozitivna korelacija između koncentracije arsena u miokardu leve komore i debljine međukomorske pregrade. Stenoza prednje međukomorne grane leve koronarne arterije nije uticala na pojačano nakupljanje metala distalno od stenozе, drugim rečima slične su bile koncentracije svih merenih metala i metaloida između dva ispitivana mesta (proksimalno i distalno od stenozе). Dobili smo statistički značajnu inverznu korelaciju između koncentracija kadmijuma distalno od stenozе i koncentracije CRP-a u krvi, dok je korelacija između koncentracije nikla distalno od stenozе i CRP-a bila statistički značajna. Osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama imaju značajno veće koncentracije olova, mangana, nikla i bakra, kao i manje koncentracije cinka u tkivu miokarda leve komore u poređenju sa kontrolama. Slične vrednosti metala i metaloida smo pronašli mereći njihove koncentracije u tkivu miokarda kod osoba sa srčanom insuficijencijom; preciznije rečeno, osobe sa srčanom insuficijencijom su imale povećane koncentracije olova, bakra, nikla, mangana i magnezijuma, a snižene koncentracije cinka u poređenju sa osobama bez srčane insuficijencije. Osobe sa ishemijskom bolesti srca i osobe bez ishemijske bolesti imale su slične koncentracije ispitivanih elemenata unutar miokarda leve komore (Mg, Ca, Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Hg, As). Takođe, naši rezultati ukazuju da osobe sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom imaju manje koncentracije gvožđa u miokardu leve komore u poređenju sa osobama bez hronične bubrežne insuficijencije.

Zaključci: Pojedini metali i metaloidi se ne nakupljaju homogeno unutar miokarda leve komore, te je stoga potrebno u budućim istraživanjima detaljno mapirati miokard leve komore za različite metale i metaloide. Pojačano taloženje olova, bakra, nikla i mangana, kao i smanjenje koncentracije cinka, moglo

bi biti povezano sa nastankom kardiomiopatija i srčane insuficijencije. Hronična bubrežna insuficijencija vodi smanjenju koncentracije gvožđa u miokardu leve komore i može doprineti nastanku tipa IV kardiorrenalnog sindroma. Makroskopski procenjivana stenoza prednje međukomorne grane leve koronarne arterije nije imala uticaja na taloženje metala distalno od stenozе.

Ključne reči: miokard; leva komora; olovo; arsen; metali; metaloidi; cink; kardiomiopatija; srčana insuficijencija; ishemijska bolest srca.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Zapaljenje i autoimunost

UDK broj:

EXAMINATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE DEGREE OF STENOSIS OF THE ANTERIOR DESCENDING BRANCH OF THE LEFT CORONARY ARTERY AND THE CONCENTRATIONS OF METALS AND METALLOIDS IN THE MYOCARDIAL TISSUE OF THE LEFT VENTRICLE

ABSTRACT

Introduction: Both globally and in Serbia, cardiovascular diseases occupy a central place in terms of the number of newly affected individuals. The connection between exposure to various metals and metalloids, which are constantly present in the environment and the development of various cardiovascular diseases, is undeniable but not thoroughly researched. In today's world, humans are exposed to various metals and metalloids during daily activities. All types of food used in nutrition, tobacco, cosmetics, and air pollution contain different concentrations of various metals and metalloids, including heavy metals. On the other hand, it is well-known from *in vivo* studies that some heavy metals, such as arsenic, cadmium, and lead, are extremely cardiotoxic, and the extent of their toxic effects correlates with the duration of exposure and the concentrations to which individuals are exposed. It has also been shown that some heavy metals can be found in elevated concentrations in the blood and/or urine of individuals with certain cardiovascular diseases, such as ischemic heart disease or cardiomyopathies. Most metals and metalloids are deposited in the myocardium to a greater or lesser extent, but the mechanisms influencing increased metal and metalloid accumulation are not sufficiently researched. It is also not well-known whether different metals and metalloids accumulate homogeneously in the myocardium or if some areas are more susceptible to accumulation than others. The disproportion that occurs in the myocardium distal to a stenosis in ischemic heart disease can result in myocardial hypoxia distal to the stenosis. Hypoxia leads to increased expression of transferrin receptor 1 (TfR1) as well as a protein called divalent metal transporter-1, which can contribute to the accelerated accumulation of heavy metals distal to the stenosis.

Thesis Objectives: The aim of this research was to investigate whether cadmium, lead, arsenic, mercury, nickel, copper, iron, manganese, zinc, calcium, and magnesium accumulate homogeneously in the left ventricular myocardium. We also wanted to examine whether the mentioned metals and metalloids accumulate to a greater extent distal to the stenosis of the anterior interventricular artery, which was assessed macroscopically. We also aimed to determine whether the concentrations of certain inflammatory factors, such as C-reactive protein (CRP) and total leukocyte count, correlate with the metal concentrations distal to the stenosis. Finally, we wanted to investigate whether individuals diagnosed with certain diseases, such as coronary heart disease, cardiomyopathies, heart failure, and chronic kidney disease, have increased or decreased levels of certain metals in the left ventricular myocardium.

Materials and Methods: Our study was organized as a cross-sectional study. We collected 90 left ventricular samples [from 62 individuals of both genders (35 man and 27 women), aged over 30 years] at the Institute of Anatomy and the Institute of Pathology of the Faculty of Medicine in Belgrade. The first part of the experiment was conducted on samples collected at the Institute of Anatomy (n=20; from ten individuals) and involved the investigation of metal deposition homogeneity within the left ventricular myocardium. The thickness of the interventricular septum was measured with a caliper at the Institute of Anatomy. The second part of the thesis was conducted on samples collected at the Institute

of Pathology, Faculty of Medicine in Belgrade, where we determined whether stenosis affects increased metal and metalloid accumulation distal to the stenosis (n=36; from 18 individuals). The stenosis of the anterior interventricular branch of the left coronary artery was assessed macroscopically during autopsies according to established principles and classified as mild, moderate, or severe. Individuals with congenital heart defects, metabolic diseases (such as hemochromatosis), and primary cardiomyopathies were excluded from further research. All data related to individuals from whom samples were taken were collected from medical histories and autopsy findings (comorbidities, CRP, leukocyte count, and other relevant information). From the cardiac tissue samples, we measured the concentrations of toxic and non-toxic metals as well as metalloids (cadmium, lead, arsenic, mercury, nickel, copper, iron, manganese, zinc, calcium, and magnesium). The last part of the experiment involved the analysis of metals and metalloids in the left ventricular myocardium in relation to the presence of myocardial diseases (ischemic heart disease, cardiomyopathies, and heart failure) and kidney diseases (chronic kidney disease) (n=52). The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Belgrade, approved the sample collection. Measurement of the thickness of the cardiac septum was performed using calipers.

Mass Spectrometry: Measurement by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) included the following steps: sample collection from cadavers, thawing, digestion of wet tissue samples with HNO₃ and H₂O₂, microwave digestion, dilution, and analysis of elements (Mg, Ca, Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Hg, As) using the iCap Q mass spectrometer. The KED mode was used to eliminate errors in iron determination. Standard calibration solutions were used to prepare calibration curves, while a multi-element internal standard was introduced online. All solutions were prepared in 2% nitric acid. The method was validated according to AOAC guidelines and accredited according to ISO 17025. The quality of the analytical process was confirmed by the analysis of reference materials NIST 1577c and ERM-BB384, and the measured concentrations were within the range of certified values.

Results: In the first part of the thesis, we investigated whether metals and metalloids accumulate uniformly within the left ventricular myocardium. Our results indicate that lead and arsenic do not accumulate uniformly; instead, these metal and metalloid deposit in higher concentrations within the apex of the left ventricle compared to the base of the left ventricle. We found a significant positive correlation between the concentration of arsenic in the left ventricular myocardium and the thickness of the interventricular septum. The stenosis of the anterior interventricular branch of the left coronary artery did not affect increased metal accumulation distal to the stenosis; in other words, the concentrations of all measured metals and metalloids were similar between the two examined locations (proximal and distal to the stenosis). We obtained a statistically significant inverse correlation between the concentrations of cadmium distal to the stenosis and the concentration of CRP in the blood, while the correlation between the concentrations of nickel distal to the stenosis and CRP was also statistically significant. Individuals with secondary cardiomyopathies had significantly higher concentrations of lead, manganese, nickel, and copper, as well as lower concentrations of zinc in the left ventricular myocardium compared to controls. A similar profile of metals and metalloids was found by measuring their concentrations in the myocardium of individuals with heart failure; more precisely, individuals with heart failure had increased concentrations of lead, copper, nickel, manganese, and magnesium, as well as decreased concentrations of zinc compared to individuals without heart failure. Individuals with ischemic heart disease and those without ischemic disease had similar concentrations of the examined elements in the left ventricular myocardium (Mg, Ca, Cd, Pb, Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Hg, As). Also, our results indicate that people with chronic renal failure have lower concentrations of iron in the myocardium of the left ventricle compared to people without chronic renal failure.

Conclusions: Some metals and metalloids do not accumulate uniformly within the left ventricular myocardium. Therefore, in future research, it is necessary to comprehensively map the myocardium of the left ventricle for different metals and metalloids. Increased deposition of lead, copper, nickel, and manganese, as well as decreased zinc concentration, may be associated with the development of cardiomyopathies and heart failure. Chronic kidney disease leads to reduced iron concentrations in the left ventricular myocardium and may play a contributory role in the development of type IV cardiorenal syndrome. Macroscopically assessed stenosis of the anterior interventricular branch of the left coronary artery had no impact on metal deposition distal to the stenosis.

Keywords: Myocardium; left ventricle; lead; arsenic; metals; metalloids; zinc; cardiomyopathy; cardiac insufficiency; ischemic heart disease.

Scientific field: Medicine

Scientific subfield: Inflammation and autoimmunity

UDK Number:

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
1.1. Povezanost između ekspozicije različitim metalima i metaloidima i nastanka različitih srčanih oboljenja.....	1
1.2. Bioraspoloživost metala i metaloida i njihovo deponovanje u miokardu.....	2
1.3. Srčana oboljenja (koronarna bolest srca, kardiomiopatije i srčana insuficijencija).....	4
1.4 Hronična bubrežna insuficijencija.....	4
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	6
3. MATERIJALI I METODE.....	7
3.1. Prikupljanje uzoraka.....	7
3.1.1. Uzorci dobijeni sa Instituta za anatomiju.....	7
3.1.2. Uzorci dobijeni sa Instituta za patologiju.....	8
3.2. Merenje induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom (ICP-MS).....	9
3.3. Merenje debljine međukomorne pregrade.....	10
3.4. Statistička analiza.....	11
4. REZULTATI.....	12
4.1. Analiza homogenosti (uniformnosti) taloženja metala i metaloida u tkivu leve komore.....	12
4.2. Korelacije između starosti i debljine interventrikularnog septuma sa koncentracijama metala.....	12
4.3. Ispitivanje potencijalne razlike koncentracija metala i metaloida u tkivu miokarda proksimalno i distalno od stenoze.....	13
4.4. Ispitivanje povezanosti između parametara inflamacije (CRP i ukupni leukociti) i nakupljanja metala distalno od stenoze.....	15
4.5. Ispitivanje povezanosti između različitih oboljenja srca i bubrega sa nakupljanjem metala i metaloida u miokardu leve komore.....	15
4.5.1. Kardiomiopatije i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore.....	15
4.5.2. Hronična bubrežna slabost i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore.....	16
4.5.3. Ishemijska bolest srca i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore....	17

4.5.4. Srčana insuficijencija i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore.....	19
5. DISKUSIJA.....	21
6.ZAKLJUČCI.....	31

1. UVOD

1.1. Povezanost između ekspozicije različitim metalima i metaloidima i nastanka različitih srčanih oboljenja

Nigra i saradnici ispitivali su potencijalnu povezanost između smrti nastale usled postojanja nekog srčanog oboljenja i izloženosti arsenu, među učesnicima studije Nacionalnog istraživanja zdravlja i ishrane stanovništva (engl. National Health and Nutrition Examination Survey; NHANES). U ovu studiju bilo je uključeno 4990 ispitanika koji imaju preko 18 godina, a koncentracija arsena merena je u urinu ispitivanih osoba. Autori su našli da postoji povezanost između niske i umerene koncentracije arsena u urinu i povećanog rizika od smrti nastale usled nekog srčanog oboljenja (Nigra et al. 2021). Mađarska je uvođenjem programa Evropske unije za unapređenje kvaliteta vode za piće (engl. Drinking Water Quality Improvement Programme; DWQIP) smanjila broj smrtnih slučajeva koji su posledica ishemijske bolesti srca (Pál et al. 2022). Treba napomenuti da čak i niske koncentracije arsena u pijaćoj vodi (0.5–0.9 µg/L) povećavaju rizik od nastanka urođenih srčanih mana (Pál et al. 2022). Takođe, povišene vrednosti arsena u krvi povezane su sa povećanim rizikom od nastanka hipertrofije leve komore (Pichler et al. 2019). Sve navedene reference nedvosmisleno ukazuju na to da postoji jasna veza između izloženosti arsenu i nastanka srčanih oboljenja, kao i povećanog rizika od smrtnog ishoda usled postojanja navedenih oboljenja. Schwartz je pokazao da postoji pozitivna povezanost između povišene koncentracije olova u krvi i nastanka hipertrofije leve komore (Schwartz 1991). Studija preseka sprovedena u Iranu obuhvatila je 130 osoba starosti između 50 i 79 godina, od kojih je kod 65 ispitanika koronarna bolest potvrđena koronarografijom. Kontrolnu grupu je činilo 65 osoba koje nemaju koronarnu bolest. Autori su našli da osobe kod kojih je prisutna koronarna bolest srca imaju veće koncentracije kadmijuma, žive i olova u poređenju sa osobama bez koronarne bolesti (Asgary et al. 2017). U nedavnom istraživanju koje su sprovedeli Malamba-Lez i saradnici merene su koncentracije 27 metala u krvi i urinu kod 41 osobe sa dijagnostikovanom dilatativnom kardiomiopatijom (DKM) i 29 zdravih ispitanika. Autori su našli povišene koncentracije berilijuma, hroma, mangana, kobalta, bakra, cinka, selen, kadmijuma, olova, antimona, talijuma i uranijuma u urinu pacijenata sa DKM u poređenju sa zdravim kontrolama. Osim toga, koncentracije ovih metala u urinu kod osoba sa DKM premašuju referentne vrednosti. S druge strane, merenja metala i metaloida u krvi su pokazala da pacijenti sa dilatativnom kardiomiopatijom imaju veće koncentracije arsena, bakra i kobalta u poređenju sa kontrolama (Malamba-Lez et al. 2021). Pored toga što neki teški metali kao što su kadmijum, arsen i olovo, nedvosmisleno doprinose nastanku srčanih oboljenja, pojedini metali koji imaju različite fiziološke uloge u organizmu, kao na primer gvožđe, u visokim koncentracijama mogu biti toksični. Povišen nivo gvožđa u organizmu može dovesti do nastanka srčanih oboljenja. Dobro je poznat primer da se kao komplikacija hemohromatoze može javiti kongestivna srčana insuficijencija. Pacijenti sa hemohromatozom u početku nastanka kardijalnih komplikacija mogu imati restriktivnu kardiomiopatiju sa dijastolnom disfunkcijom, a kasnije neretko ovo stanje progredira u dilatativnu kardiomiopatiju (Oudit et al. 2006, Kremastinos et al. 1993, Kobayashi et al. 2018). U studiji u koju je bilo uključeno 9602 ispitanika iz Koreje, Nguyen i saradnici su pokazali da postoji značajna pozitivna povezanost između nivoa olova, kadmijuma i žive u krvi sa pojavom nekog od kardiovaskularnih oboljenja u periodu od 10 godina (Nguyen et al. 2021).

Sve navedene studije su pokazale da ekspozicija određenim metalima (npr. kadmijum, arsen i drugi), kao i povišene vrednosti ovih metala i metaloida u krvi i/ili urinu, usko su povezane sa nastankom različitih srčanih oboljenja, a to su najčešće neki tipovi kardiomiopatije i koronarna bolest srca.

1.2. Bioraspoloživost metala i metaloida i njihovo deponovanje u miokardu

Glavni put ulaska različitih metala i metaloida u organizam jeste resorpcija iz creva (Klaassen et al. 2009). U drugoj polovini devetnaestog i tokom dvadesetog veka dolazi do ubrzanog razvoja industrije i svi teški metali postaju deo čovekove životne sredine. Sagorevanje fosilnih goriva i rudarstvo kao široko rasprostranjena grana industrije, doprinose kontaminaciji čovekove životne sredine različitim metalima i metaloidima. Praktično sve vrste namirnica koje svakodnevno unosimo u organizam sadrže određenu količinu teških metala (Maduabuchi et al. 2006, Song et al. 2017), tako da danas nije pitanje da li se teški metali nalaze u hrani koju unosimo, već u kojoj koncentraciji su oni prisutni. Takođe, neki regioni u svetu imaju velike probleme sa visokom koncentracijom arsena u pijaćoj vodi, kao što je u Srbiji pokrajina Vojvodina (Jovanovic et al. 2011).

Pored gastrointestinalnog trakta, značajan put ulaska metala i metaloida u ljudski organizam jeste respiratorni trakt (Witkowska et al. 2021). Manja količina toksičnih metala i metaloida može dospeti u ljudski organizam i putem kože.

S jedne strane, zagađen vazduh u urbanim sredinama je značajan izvor izloženosti stanovništva teškim metalima. Čestice manje od 2,5 mikrometra (PM_{2,5}) uglavnom sadrže neorganska i organska jedinjenja ugljenika, zatim sulfate, nitrate, amonijum, ali mogu takođe sadržati i kadmijum, aluminijum i olovo (Urch et al. 2004, Hassanvand et al. 2015). Kao rezultat toga, Zaheri i saradnici su pokazali da deca koja žive u industrijskoj zoni Irana, u kojima su izmerene visoke koncentracije PM_{2.5} čestica, imaju povišene vrednosti arsena, žive, nikla, kadmijuma i hroma (Zahedi et al. 2021). Kratkotrajna izloženost PM_{2.5} česticama od nekoliko sati do nekoliko nedelja povećava rizik od različitih kardiovaskularnih oboljenja, uključujući koronarnu bolest, infarkt miokarda, srčanu slabost, kao i mogućnost nastajanja aritmija (Brook et al. 2010). S druge strane, Jalali i saradnici su pokazali da dugotrajna izloženost PM_{2.5} česticama iz okruženja povećava rizik od razvoja kardiovaskularnih oboljenja, uključujući akutni infarkt miokarda, ishemijsku bolest srca i moždane udare (Jalali et al. 2021). Obe navedene studije nedvosmisleno ukazuju na to da je nivo PM_{2.5} čestica važan faktor rizika u kardiovaskularnim bolestima (Jalali et al. 2021, Brook et al. 2010). Treba istaći da nije samo zagađen vazduh izvor teških metala. Naime, dve studije su pokazale da osobe koje su pušači imaju povišene vrednosti nekih metala i metaloida u krvi. Studija sprovedena u Srbiji je pokazala da osobe koje puše imaju više nivoe kadmijuma i olova u krvi u poređenju sa nepušačima (Repić et al. 2020). Dok je druga studija iz Irana pokazala da osobe koje puše imaju niže nivoe gvožđa i povećane koncentracije arsena, mangana i bakra u krvi u poređenju sa nepušačima (Shakeri et al. 2021). Takođe, pušenje je već dobro poznati faktor rizika za širok spektar kardioloških oboljenja uključujući kardiomiopatje, koronarnu bolest i druge (Oshunbade et al. 2021).

Kako su creva glavni put ulaska metala i metaloida u organizam, potrebno je objasniti njihovu oralnu bioraspoloživost i način na koji se resorbuju. Divalentni metalni transporter-1 (engl. Divalent metal transporter-1; DMT-1), koji transportuje gvožđe iz creva, vrlo je neselektivan i može da služi kao transporter za različite druge metale i metaloide, poput kadmijuma, kobalta, nikla, olova, mangana, bakra i cinka (Gunshin et al. 1997). Nivo DMT-1 proteina, kao i transferinskog receptora 1 (Transferrin receptor 1; TfR1), modifikovan je preko hipoksija-inducibilnih faktora (Hypoxia-inducible factors; HIFs) (Shah et al. 2009), preciznije rečeno, preko hipoksija-inducibilnog faktora 1 i 2 (HIF1 i HIF2). Kao rezultat sistemske hipoksije koja se viđa kod teških oblika hronične opstruktivne bolesti pluća (HOBP)

ili anemije usled nedostatka gvožđa, HIF-1 i 2 se akumuliraju intracelularno, što dovodi do pojačanog ekspimiranja DMT-1 u tankom crevu i posledične povećane resorpcije svih dvovalentnih katjona. Brojne studije su potvrdile da osobe koje boluju od HOBP ili anemije imaju povišene vrednosti kadmijuma u krvi (Leem et al. 2015, Oh et al. 2014, Kim and Park 2014, Cirovic et al. 2022). Bioraspoloživost teških metala raste kod osoba sa anemijom iz dva razloga. Teški metali su prisutni u hrani, a kod osoba koje su anemične i/ili imaju HOBP DMT-1 se pojačano ekspimiraju. Nedostatak gvožđa, kao i anemija usled nedostatka gvožđa, teme su koje su sve više u fokusu istraživača, kao i njihova uloga u nastanku različitih kardioloških oboljenja, i to srčane slabosti pre svega (Savarese et al. 2022). Takođe, osobe koje imaju HOBP pod većim su rizikom od razvoja koronarne bolesti srca nego osobe koje nemaju (Wang 2021).

Dosada se mali broj studija bavio direktnim merenjem koncentracije različitih metala u humanom materijalu (Egger et al. 2019). Baba i saradnici su, kao i Egger i saradnici, merili koncentracije kadmijuma u različitim tkivima ljudskog porekla. Egger i kolege su merili koncentracije kadmijuma u 40 različitih vrsta tkiva na četiri kadavera (dva muška i dva ženska). Oni su pokazali da koncentracija kadmijuma varira i nekoliko hiljada puta između različitih tkiva. Takođe, oni su dobili da su najveće koncentracije kadmijuma u jetri i bubrezima, ali da i miokard deponuje značajne količine ovog metala. Egger i saradnici su analizirali deo miokarda leve komore sa prednje (sternokostalne) strane. Vrednosti koje su autori ovog rada dobili su 22.7µg/kg, 72.622.7µg/kg, 21.822.7µg/kg, 46.422.7µg/kg (Egger et al. 2019). Baba i saradnici su analizirali koncentracije kadmijuma u preko 100 kadavera, svi su bili ženskog pola, i takođe su dobili najveće koncentracije kadmijuma u jetri i bubrezima, međutim, ovaj metal takođe deponuje i u miokardu (Baba et al. 2013). S druge strane, Limaye i Shaikh su u svojoj *in vitro* studiji pokazali da je kadmijum 100 puta toksičniji za kardiomiocite nego za hepatocite ili ćelije bubrega. Štaviše, kardiomiociti na svojoj površini ekspimiraju kako DMT-1 tako i TfR1 (Cabrera et al. 2023), i mogu lako da preuzimaju metale iz krvi i deponuju ih (Slika 1).

Ukratko, izloženost PM2.5 česticama, pušenje, svakodnevno unošenje hrane i vode koja u određenoj meri sadži veliki broj metala i metaloida, povećavaju bioraspoloživost teških metala i svaki od pomenutih faktora rizika je povezan sa nastankom različitih kardioloških oboljenja (npr. koronarna bolest ili kardiomiopatije). Naravno da postoje različiti mehanizmi preko kojih pojedina stanja, kao što su različiti tipovi anemija, nedostatak gvožđa ili hronična opstruktivna bolest pluća (HOBP) mogu doprineti pojačanom nakupljanju metala i metaloida iz spoljašnje sredine (izloženost PM2.5 česticama ili pušenje) i posledično da doprinesu nastanku kardioloških oboljenja (Cirovic and Cirovic 2023, Savarese et al. 2023).

Sve studije koje su do sada ispitivale taloženje metala u humanom tkivu, ako su uključivale srčani mišić u analizu, analizirale su samo jedno mesto (Baba et al. 2013, Egger et al. 2019). Štetna dejstva teških metala su dozno i vremenski zavisna, izlaganje višim koncentracijama i produženo vreme ekspozicije rezultuje većim intenzitetom i opsegom oštećenja (Li et al. 2021a, Wang et al. 2023), te su stoga potrebne studije koji ispituju da li u miokardu postoji homogenost u deponovanju različitih metala i metaloida.

Takođe, mali je broj objavljenih radova koji su se bavili ispitivanjem taloženja metala i metaloida u miokardu kod različitih srčanih oboljenja (Rahil-Khazen et al. 2002b, Frustaci et al. 1999).

1.3. Srčana oboljenja (koronarna bolest srca, kardiomiopatije i srčana insuficijencija)

Ishemijska bolest srca predstavlja trenutno jedan od primarnih javnozdravstvenih problema jer je vodeći uzrok smrti u svetu sa više od 125 miliona umrlih, što je 1.72% svetske populacije (Khan et al. 2020, Dai et al. 2020). U osnovi patofiziološkog mehanizma nastanka ovog oboljenja je segmentalno suženje koronarnih arterija usled uznapredovale ateroskleroze. Pored dobro poznatih faktora rizika za nastanak ishemijske bolesti srca, kao što su visok krvni pritisak, hiperholesterolemija, prisustvo dijabetesa, pušenje, postoji veliki broj radova koji govore o tome da hronična izloženost teškim metalima može da bude doprinoseći faktor rizika. Pošto je ishemijska bolest srca jedan od najznačajnijih medicinskih problema u svetu, detaljno ispitivanje uticaja svih faktora rizika je neophodno. Ovo se posebno odnosi na štetan uticaj teških metala koji su konstantno prisutni u našoj životnoj sredini i kojima je čovek svakodnevno izložen.

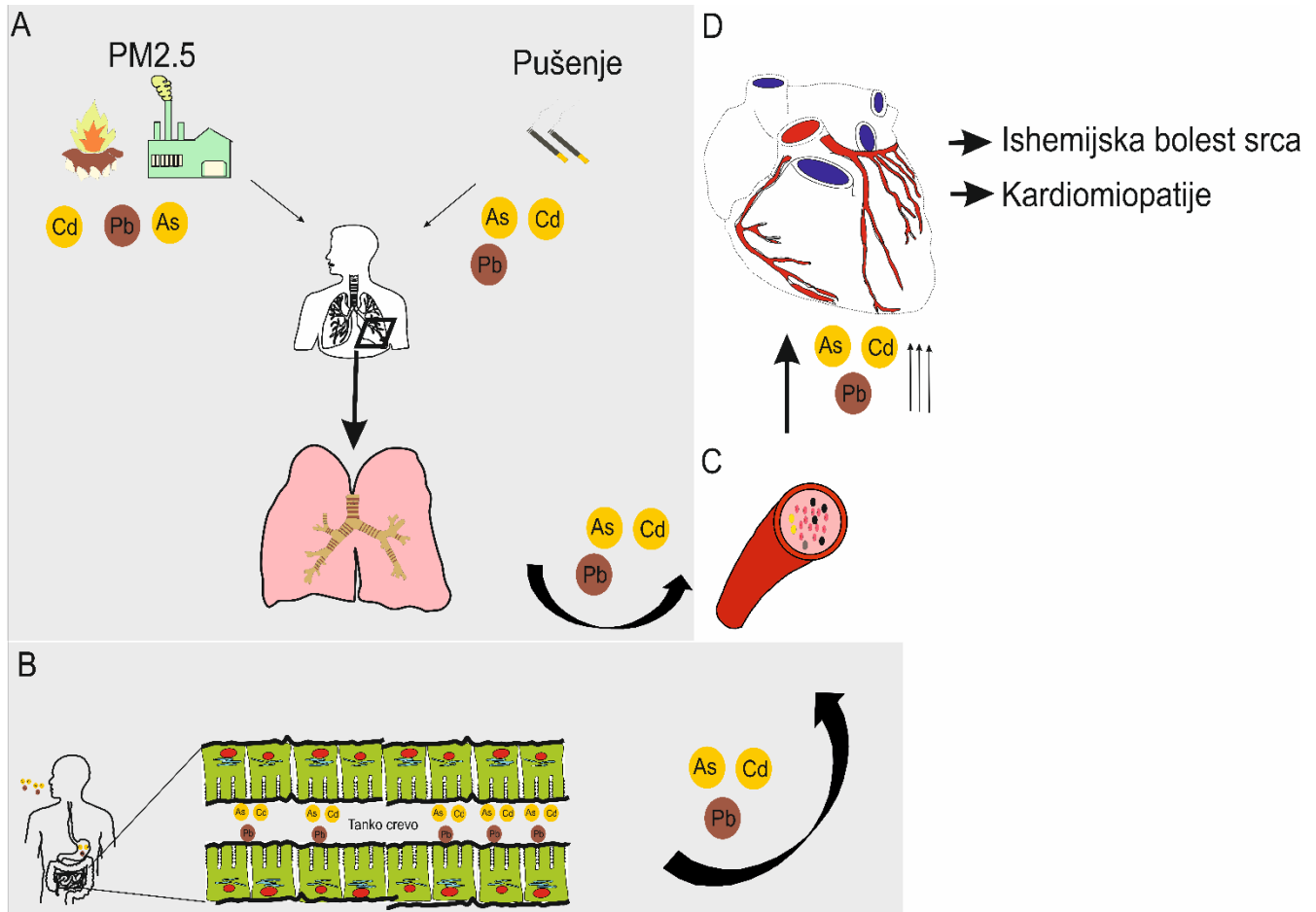
Najčešći tip vaskularizacije srca čoveka je preko dve arterije, desne i leve koronarne arterije (a. coronaria dextra et sinistra). Najveći deo dijafragmalne strane srca i zadnji deo srčane pregrade (septum cordis) vaskularizuje desna koronarna arterija. Prednji deo septuma, pulmonalnu i sternokostalnu stranu srca krvlju snabdeva leva koronarna arterija, odnosno njene grane, i to prednja međukomorna grana i polukružne grane leve koronarne arterije (r. interventricularis anterior et r. circumflexus a. coronariae sinistrae). Distalno od suženja bilo koje od navedenih grana koronarnih arterija dolazi do diskrepance između zahteva miokarda za kiseonikom i količine krvi koja dospe u ishemično područje, a kao rezultat toga nastaje relativna hipoksija srčanog mišića koja remeti fiziološko funkcionisanje. Kao posledica hipoksije, DMT-1 i TfR1 mogu da se eksprimiraju na površini ćelije u većem obimu (Cirovic and Tasic 2023), što bi moglo da dovede do pojačane akumulacije metala u tkivu distalno od stenozе.

Kardiomiopatije (CMP) su skup poremećaja koji primarno zahvata srčani mišić i može dovesti do srčane slabosti ako se ne leči pravovremeno. Dilatativna CMP predstavlja ozbiljan zdravstveni problem koji karakteriše kontraktilna disfunkcija u kombinaciji sa proširenjem leve komore. Takođe, dilatativna kardiomiopatija je jedan od glavnih razloga za transplantaciju srca (Maron et al. 2006), odmah posle ishemijske bolesti srca i bolesti srčanih zalistaka. Drugi tipovi CMP-a, kao što je ishemijska kardiomiopatija, takođe predstavljaju ozbiljna patološka stanja. Budući da CMP negativno utiče na kvalitet života pacijenata (Steptoe et al. 2000) i na kraju može da se završi transplantacijom srca, svi faktori rizika povezani sa pojavom i napredovanjem CMP-a treba da budu prepoznati i detaljno istraženi. Takođe, rezultati nekih istraživanja sugerišu da se kod kardiomiopatija pojačano talože teški metali u srčanom tkivu, kao što su antimoni i živa (Frustaci et al. 1999).

1.4. Hronična bubrežna insuficijencija

Hronična bubrežna insuficijencija (chronic kidney disease; CKD) karakteriše se nepovratnim, postepenim smanjenjem bubrežne funkcije. Međunarodne smernice definišu CKD kao pad brzine glomerularne filtracije (glomerular filtration rate; GFR) <60 mL/min/1,73 m² i/ili prisustvo markera oštećenja bubrega, kao što su albuminurija (indeks albumin/kreatinin ≥ 30 mg/g) ili postojanje histoloških i strukturnih abnormalnosti (oštećenja) ili pozitivna istorija transplantacije bubrega (Bailie et al. 2005, Ammirati 2020). Procenjena prevalencija za hroničnu bubrežnu insuficijenciju na svetskom nivou iznosila je 9,1%, što znači oko 700 miliona slučajeva (Bikbov et al. 2020). Predviđeno je da će broj umrlih usled CKD da se poveća oko tri puta do 2040. godine i dostići 3,1 milion (Foreman et al. 2018). Kao i za kardiovaskularna oboljenja, hipertenzija i dijabetes melitus su među najznačajnijim faktorima koji doprinose nastanku i progresiji hronične bubrežne insuficijencije (Levey and Coresh 2012). Imajući

u vidu da hronična bubrežna insuficijencija i kardiovaskularna oboljenja imaju neke zajedničke faktore rizika, kao i da osobe koje imaju hroničnu bubrežnu insuficijenciju imaju povećan rizik od nastanka različitih kardioloških oboljenja, detaljnije ispitivanje veze između ova dva organa u cilju optimizacije znanja patofizioloških mehanizama uključenih u interakciju bubrega i srca kod različitih oboljenja je neophodno.



Slika 1. Šematski prikaz izvora teških metala i njihov put ka deponovanju u srčanom mišiću; A – uticaj PM2.5 čestica i pušenja na bioraspoloživost teških metala. B – resorpcija teških metala iz creva. C i D – transport i deponovanje teških metala u miokardu i njihov doprinoseći efekat u nastanku različitih oboljenja srčanog tkiva.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- Ispitati da li se toksični i netoksični metali nakupljaju u tkivu leve komore podjednako;
- Ispitati da li stenozna nishodna grana leve koronarne arterije utiče na pojačano nakupljanje metala distalno od mesta stenozne;
- Ispitati da li klinički (laboratorijski) markeri zapaljenja [C reaktivni protein (CRP) i ukupan broj leukocita] koreliraju sa koncentracijom toksičnih metala distalno od stenozne;
- Ispitati da li postojanje pojedinih srčanih oboljenja (srčana slabost i koronarna bolest) utiče na pojačano nakupljanje toksičnih i netoksičnih metala u tkivu miokarda leve komore.

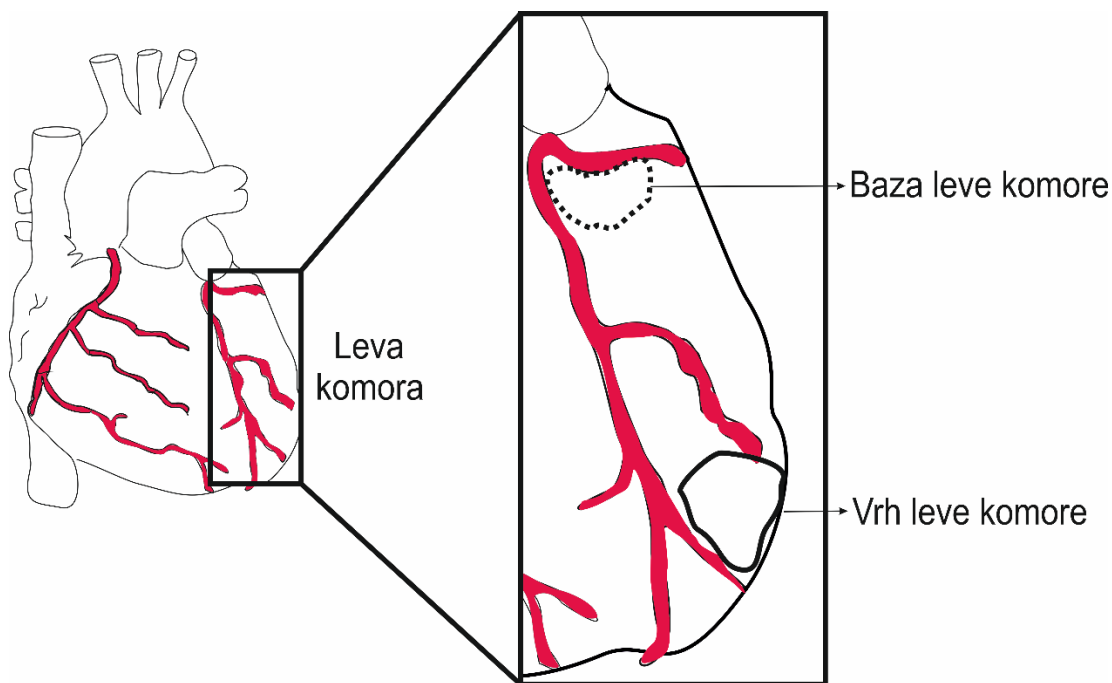
3. MATERIJALI I METODE

3.1. Prikupljanje uzoraka

Za potrebe ove teze prikupili smo ukupno 90 uzoraka leve komore od 62 osobe (35 muškaraca i 27 žena), i to sa Instituta za anatomiju i sa Instituta za patologiju. Svi uzorci su uzimani sa prednje (sternokostalne) strane leve komore, što je u skladu sa dosadašnjom literaturom (Egger et al. 2019).

3.1.1. Uzorci dobijeni sa Instituta za anatomiju

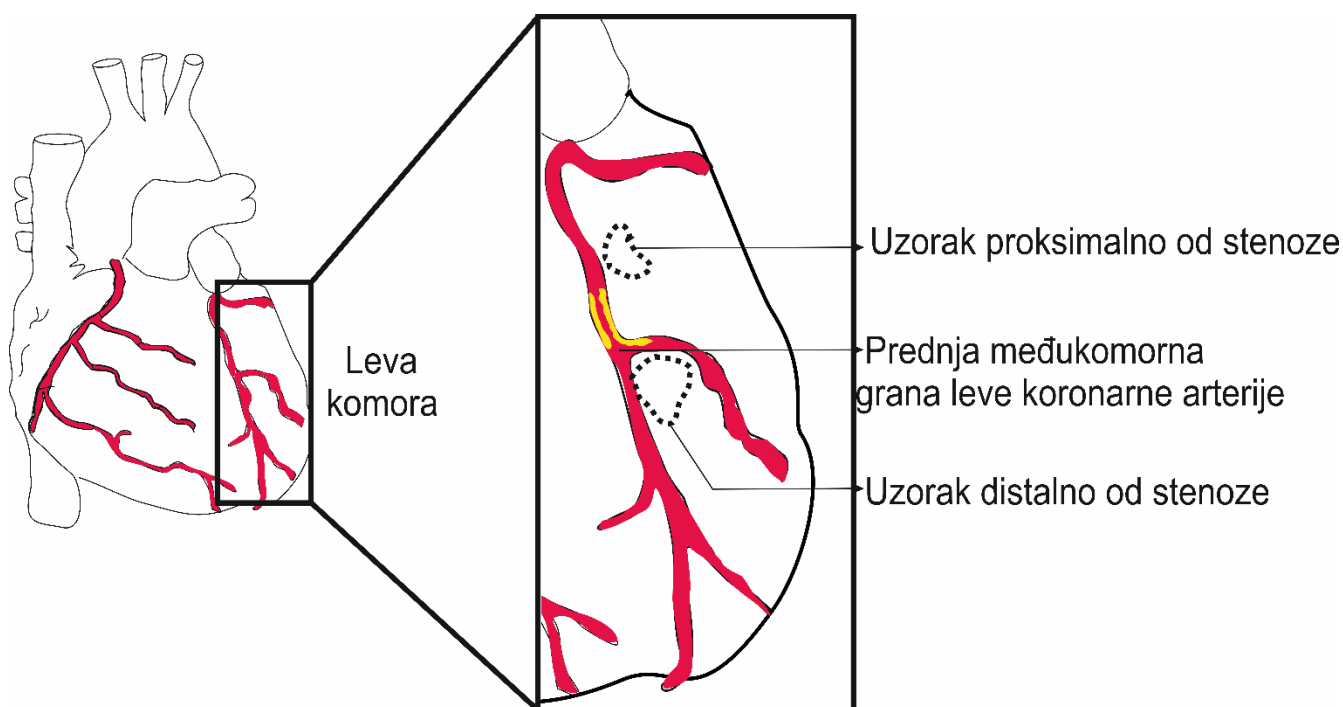
Sakupili smo 20 uzoraka leve komore od 10 donora starosti (5 muškaraca i 5 žena, 75 ± 6 godina) na Institutu za anatomiju Univerziteta u Beogradu. Deset uzoraka miokarda je uzeto sa vrha leve komore, a preostalih deset je uzeto sa baze leve komore (Slika 2). Uzorci su dobijeni tokom rutinske disekcije. Njihova težina iznosila je između pola grama i jednog grama i imali su dimenzije približno $5 \times 5 \times 5$ mm. Nakon ekstrakcije, uzorci su čuvani na -20 °C do merenja. Osobe čija su tela korišćena za studiju umrle su usled traumatskih povreda ili bolesti povezanih sa starenjem, uključujući oboljenje jetre. Svi donori potpisali su formulare informisanog pristanka pre svoje smrti a koji se tiču upotrebe njihovih tela u naučne i obrazovne svrhe od strane Instituta za anatomiju Univerziteta u Beogradu.



Slika 2. Šematski prikaz mesta uzorkovanja miokarda leve komore na njenom prednjem zidu.

3.1.2. Uzorci dobijeni sa Instituta za patologiju

Sakupili smo 70 uzoraka leve komore od 52 osobe (30 osoba muškog pola, 69 ± 15 godina i 22 osobe ženskog pola, 69 ± 11 godina). Naime, da bismo ispitali da li stepen stenozе prednje međukomorne grane leve koronarne arterije utiče na pojačano nakupljanje metala i metalioda u tkivu miokarda leve komore, prikupili smo 36 vezanih uzoraka (18 proksimalno od najveće stenozе na prednjoj međukomornoj grani leve koronarne arterije i 18 distalno od mesta stenozе) (Slika 3), dok su ostala 34 uzorka uzimana po modelu jedan uzorak sa jedne osobe. Kako bismo mogli da ispitate da li stenozа utiče na pojačano nakupljanje metala i metaloida, 36 uzoraka je uzeto sa 18 osoba, dok su ostali prikupljeni kao što smo i naveli, jedan uzorak po kadaveru. Stepен stenozе je procenjivan makroskopski, u toku same obdukcije. Kao i uzorci dobijeni sa Instituta za anatomiju, uzorci sa Instituta za patologiju su čuvani na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, do dana merenja. Svi potrebni podaci o bolestima srca i drugim komorbiditetima, kao i zadnje merene koncentracije C-reaktivnog proteina i ukupan broj leukocita, uzimani su iz istorija bolesti. Dijagnoza koronarne bolesti, srčane slabosti i sekundarne kardiomiopatije postavljena je pre smrti pojedinca, tokom hospitalizacije u tercijarnim bolničkim ustanovama. Dakle, kriterijumi za uključivanje slučajeva bili su prisustvo sekundarne kardiomiopatije, koronarne bolesti ili srčane slabosti. Kriterijumi za isključivanje bili su: i) prisustvo primarne kardiomiopatije; ii) urođeni defekti srca; i iii) anemija koja zahteva transfuziju ili hemohromatoza. Štaviše, iv) osobe kod kojih je bila dijagnostikovana hronična opstruktivna bolest plućа (HOBP) nisu bile uključene u analizu, jer bi mogle imati povećane nivoe određenih teških metala.



Slika 3. Šematski prikaz mesta uzorkovanja proksimalno i distalno od mesta najveće stenozе prednje međukomorne grane leve koronarne arterije.

Što se tiče kontrola, kriterijumi za uključivanje podrazumevali su odsustvo sekundarne kardiomiopatije, koronarne bolesti, srčane slabosti i drugih kardioloških oboljenja; dok su kriterijumi za isključivanje obuhvatali sledeće: i) prisustvo primarne kardiomiopatije; ii) urođeni defekti srca; iii) anemija koja zahteva transfuziju ili hemohromatoza; i iv) HOBP. Sve uključene osobe preminule su od stanja kao što su maligniteti, pankreatitis, akutna bubrežna insuficijencija, sepsa, gastrointestinalno krvarenje ili plućna embolija.

3.2. Merenje induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom (ICP-MS)

Nakon ekstrakcije uzoraka iz leševa i čuvanja, oni su bili podvrgnuti odmrzavanju. Vlažni uzorci tkiva (oko 0,5 g) digestovani su u teflonskom sudu sa 5 mL 67% HNO₃ (Trace Metal Grade, Fisher Scientific, Bishop, UK) i 1,5 mL 30% H₂O₂ (analitičkog stepena, Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA) za mikrotalasnu digestiju.

Mikrotalasna digestija je izvršena korišćenjem mikrotalasnog uređaja Start D (Milestone, Sorisole, Italija) sa programom koji se sastojao od tri koraka: zagrevanje do 180 °C u roku od 300 sekundi, zadržavanje na 180 °C tokom 10 minuta i provetravanje tokom 20 minuta. Nakon što se temperatura spustila, digestovani uzorci su preneti kvantitativno u jednokratne balone i razblaženi do 100 mL pomoću dejonizovane vode proizvedene putem sistema za pročišćavanje vode (Purelab DV35, ELGA, Buckinghamshire, UK). Analiza induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom (ICP-MS) izvršena je za magnezijum (Mg), kalcijum (Ca), kadmijum (Cd), olovo (Pb), gvožđe (Fe), cink (Zn), bakar (Cu), mangan (Mn), nikel (Ni), živu (Hg) i arsen (As) korišćenjem masenog spektrometra iCap Q (Thermo Scientific, Bremen, Nemačka) (Tabela 1). Položaj plamenika, jon-optika i postavke detektora svakodnevno su podešavane rastvorom za podešavanje (Tune B, Thermo Scientific) kako bi se optimizovali mehanički i električni parametri i minimizirale smetnje. Korišćeni su sledeći parametri: RF snaga (1550 W); protok rashladnog gasa (14 L/min); protok raspršivača (1 L/min); protok gasa za koliziju (helijum, 1 mL/min); radni režim (Kinetička Energija Diskriminacije – KED); i vreme zadržavanja (100 ms). Režim KED je korišćen tokom analize kako bi se eliminisale greške u određivanju gvožđa, koje mogu nastati od argona i kiseonika, koji imaju istu masu kao gvožđe.

Tabela 1. RSDr – relativna standardna devijacija reproduktivnosti;

Uzorci sa koncentracijama elemenata iznad gornjeg opsega su na odgovarajući način razblaženi.

Elements	Range	LOD	LOQ	RSDr	Recovery
	$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g kg}^{-1}$	$\mu\text{g kg}^{-1}$	%	%
⁷⁵ As	4 - 100	1,2	4	6,57	95,3
¹¹¹ Cd	1 - 100	0,4	1	8,99	100,4
²⁰⁷ Pb	4 - 100	2	3,8	6,65	101,1
²⁰² Hg	1 - 100	0,3	0,9	6,90	96,0
	mg kg^{-1}	mg kg^{-1}	mg kg^{-1}	%	%
⁶³ Cu	1 - 50	0,022	0,066	6,26	101,7
⁵⁷ Fe	5 - 300	0,08	0,23	4,71	96,6
⁶⁶ Zn	2 - 100	0,124	0,372	10,52	95,6
⁵⁵ Mn	0,1 - 5	0,004	0,011	4,47	102,0
⁶⁰ Ni	0,1 - 5	0,050	0,145	9,19	102,4
⁴⁴ Ca	10 - 500	3,08	9,24	3,64	99,6
²⁴ Mg	10 - 500	0,13	0,40	3,03	98,2

Standardni kalibracioni rastvori koji sadrže 1000 mg/L svakog elementa (Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Na, K, Mg, Ca, Cd, Pb, Hg, i As) kupljeni su od CPAchem (Bogomilovo, Bugarska) i korišćeni su za pripremu kalibracionih krivih sa pet tačaka (uključujući nulu). Višeelementni interni standard (6Li, 45Sc, 71Ga, 89Y, 209Bi) uveden je onlajn putem dodatne linije pomoću peristaltičke pumpe, pokrivajući širok maseni opseg. Svi rastvori (standardi, interni standardi i uzorci) pripremljeni su u 2% azotnoj kiselini. Analitička metoda je validirana prema Smernicama za validaciju metoda za metale u hrani (AOAC) i akreditovana prema ISO 17025. Kvalitet analitičkog procesa je potvrđen analizom sertifikovanih referentnih materijala NIST 1577c (goveđa jetra, Gaithersburg, MD, USA) i ERM-BB384 (liofilizovano svinjsko meso, ERM, Geel, Belgija), koji su pripremljeni kao uzorci korišćenjem mikrotalasne digestije. Izmerene koncentracije za sve izotope bile su u opsegu sertifikovanih vrednosti.

3.3. Merenje debljine međukomorne pregrade

Merili smo debljinu međukomorne pregrade (septum interventriculare) blizu vrha srca pomoću kalipera. Merenje su izvršila dva istraživača odvojeno i srednje vrednosti su uključene za statističku analizu.

3.4. Statistička analiza

Kolmogorov–Smirnov test je korišćen da se proveri da li su svi parametri (godine starosti, koncentracije metala) u skladu sa normalnom raspodelom. T-test ili Mann-Whitney U-test je korišćen da se provere razlike srednjih vrednosti koncentracija metala između dva ispitivana nišana leve komore (vrh i baza LV, i proksimalno i distalno od stenozе), kao i između ispitivanih grupa (osobe sa kardiomiopatijama i bez kardiomiopatija; ispitanici sa ishemijskom bolešću i bez ishemijske bolesti; osobe sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom i bez bubrežne isuficijencije. U zavisnosti od raspodele podataka, korišćen je jedan od korelacionih testova Pearson (ili Spearman) da bi se utvrdila povezanost između koncentracija metala/metaloida sa uzrastom i debljinom interventrikularnog septuma. Sve analize su obavljene dvostrano u SPSS softveru ver. 15 na nivou značajnosti 0.05.

4. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

4.1. Analiza homogenosti (uniformnosti) taloženja metala i metaloida u tkivu leve komore

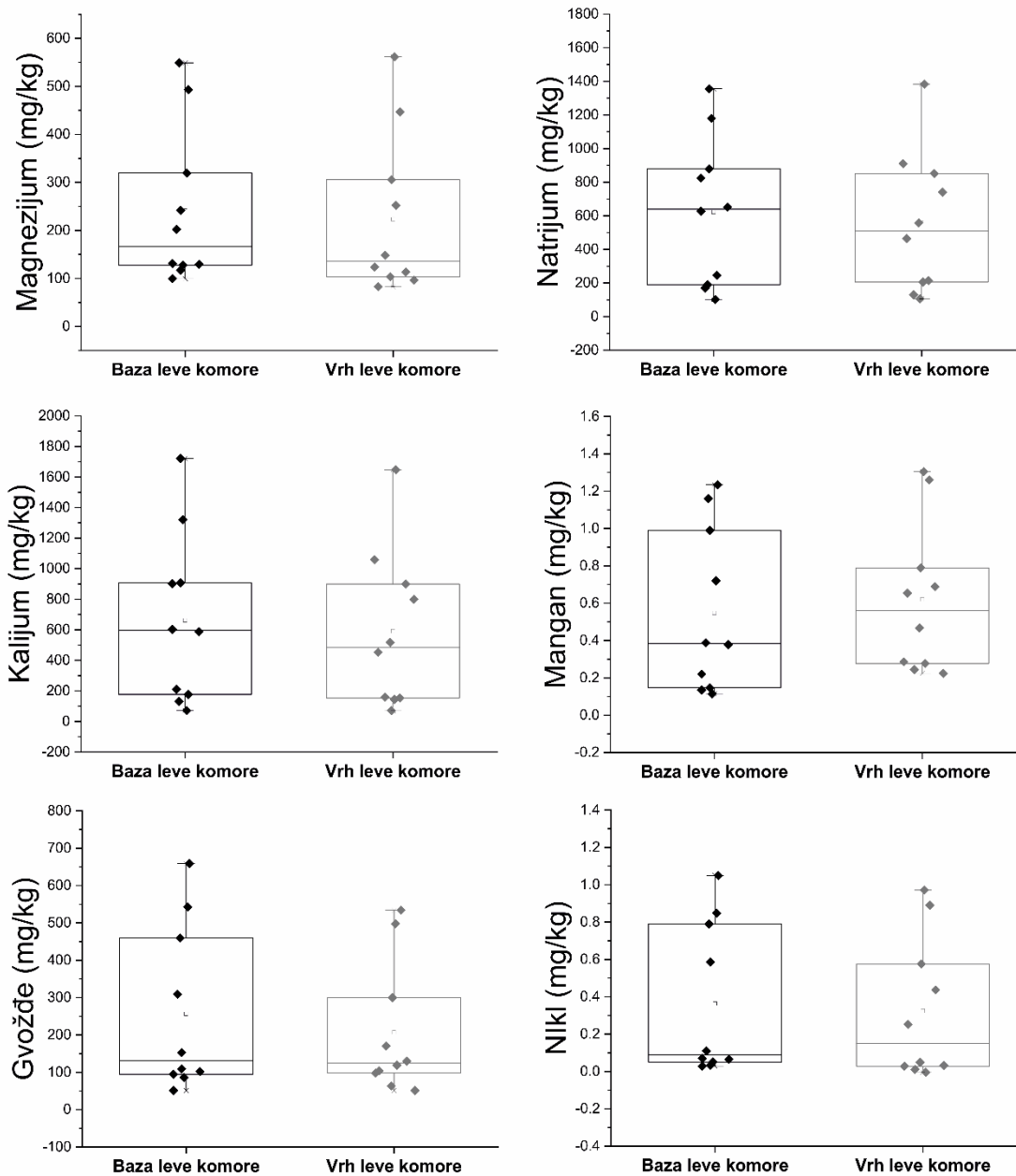
Za svrhu ove analize prikupili smo 20 uzoraka leve komore, 10 uzoraka je uzeto sa baze leve komore a 10 sa vrha, od istih osoba. Glavna prednost ove analize je to što su oba uzorka od iste osobe, što znači da su bili pod identičnim uslovima u svom mikrokruženju. Poređenje dva udaljena dela miokarda leve komore dalo je najprecizniji odgovor na to da li se pojedini metali nakupljaju homogeno unutar miokarda leve komore.

Prosek godina uključenih osoba bio je 75 ± 6 . Debljina međukomorske pregrade iznosila je $1,25 \pm 0,3$ centimetra. Uzorak se sastojao od pet muških i pet ženskih osoba.

Koncentracija arsena bila je značajno veća u uzorcima dobijenim sa vrha leve komore u poređenju sa bazom leve komore ($p=0.0147$). Takođe, pokazali smo da vrh srca ima veće koncentracije olova u poređenju sa bazom ($p=0.0111$). Međutim, nismo primetili značajnije varijacije u koncentracijama drugih elemenata (kalcijum, kadmijum, gvožđe, živa, magnezijum, mangan, nikl, cink, bakar) između ova dva ispitivana mesta ($p=0.805$, $p=0.902$, $p=0.853$, $p=0.684$, $p=0.529$, $p=0.436$, $p=0.436$, $p=0.579$, $p=0.684$). Takođe se koncentracije natrijuma i kalijuma nisu razlikovale između grupa ($p=0.735$, $p=0.631$) (Slika 5).

4.2. Korelacije između starosti i debljine interventrikularnog septuma sa koncentracijom metala

Takođe smo ispitivali da li postoji povezanost između starosti ili debljine međukomorske pregrade sa dobijenim koncentracijama metala u miokardu leve komore. Za ovu analizu koristili smo srednje vrednosti dva ispitivana mesta. Nismo dobili značajnost korelacije između starosti i koncentracija arsena, kadmijuma, bakra, gvožđa, magnezijuma, mangana, nikla, cinka i olova ($p=0.302$, $p=0.595$, $p=0.556$, $p=0.110$, $p=0.354$, $p=0.369$, $p=0.354$, $p=0.302$ i $p=0.302$). Međutim, pronašli smo značajnu negativnu korelaciju između koncentracija žive i starosti ($r=-0.929$, $p=0.007$). Osim toga, primetili smo značajnu pozitivnu korelaciju između koncentracija arsena u levoj komori i debljine interventrikularnog septuma ($r=0.81$, $p=0.008$). Dalje, nismo primetili značajnu korelaciju između debljine međukomorske pregrade i koncentracija drugih elemenata (kadmijum, gvožđe, živa, magnezijum, mangan, nikl, cink, olovo, bakar i kalcijum) ($p=0,154$, $p=0,795$, $p=0,648$, $p=0,526$, $p=0,09$, $p=0,291$, $p=0,440$, $p=0,305$, $p=0,440$, $p=0,897$).

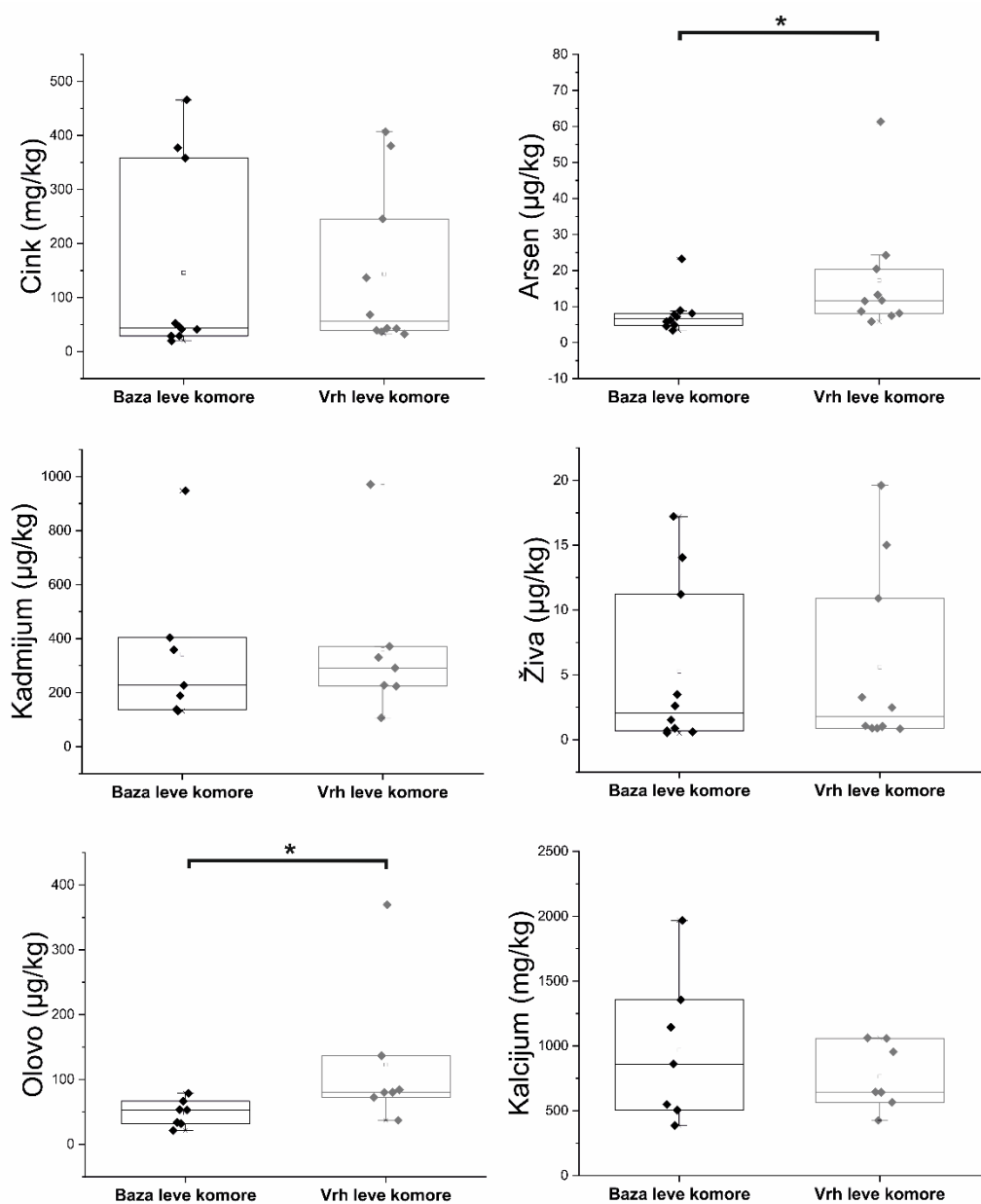


Slika 4. Koncentracije metala između ispitivanih mesta (baza leve komore i vrh leve komore); * $p < 0.05$.

4.3. Ispitivanje potencijalne razlike metala i metaloida u tkivu miokarda proksimalno i distalno od stenozе

Za ovu svrhu ispitivanja prikupili smo 36 uzoraka miokarda leve komore od 18 osoba (6 žena, prosek godina: 67 ± 13 i 12 muškaraca, prosek godina: 63 ± 18). Polovina uzoraka ($n=18$) uzeta je proksimalno od stenozе, dok je preostalih 18 uzoraka uzimano distalno od stenozе. Po šest je bilo iz svake kategorije stenozе, blaga, srednje teška i teška.

Nijedan od ispitivanih metala i metaloida (arsen, kalcijum, kadmijum, bakar, gvožđe, živa, kalijum, magnezijum, mangan, natrijum, nikl, olovo i cink) nije se razlikovao između mesta $p=0.537$, $p=0.171$, $p=0.888$, $p=0.339$, $p=0.828$, $p=0.603$, $p=0.650$, $p=0.375$, $p=0.457$, $p=0.462$, $p=0.849$, $p=0.445$, $p=0.481$.



Slika 5. Koncentracije različitih metala i metaloida između ispitivanih mesta; $*p < 0.05$.

4.4. Ispitivanje povezanosti između parametara inflamacije (CRP i ukupni leukociti) i nakupljanja metala distalno od stenoze

Nismo dobili statistički značajnu povezanost između ispitivanih metala (arsen, kalcijum, kadmijum, bakar, gvožđe, živa, magnezijum, mangan) i C-reaktivnog proteina ($p=0.948$, $r=-0.03$; $p=0.1$, $r=-0.6$; $p=0.213$, $r=0.467$; $p=0.842$, $r=-0.078$; $p=0.861$, $r=0.0685$; $p=0.998$, $r=-0.001$; $p=0.827$, $r=0.08$; $p=0.482$, $r=-0.27$). Dobili smo statistički značajnu inverznu korelaciju između koncentracija kadmijuma distalno od stenoze i koncentracije CRP-a ($p=0.04$, $r=-0.7$), dok je korelacija između koncentracije nikla distalno od stenoze i CRP-a bila statistički značajna ($p=0.04$, $r=0.7$).

Nismo dobili statistički značajnu povezanost između ispitivanih metala (arsen, kalcijum, kadmijum, bakar, gvožđe, živa, magnezijum, mangan) i ukupnog broja leukocita ($p=0.252$, $r=0.427$; $p=0.651$, $r=-0.176$; $p=0.731$, $r=0.134$; $p=0.431$, $r=-0.301$; $p=0.053$, $r=-0.66$; $p=0.228$, $r=0.447$; $p=0.223$, $r=0.451$; $p=0.104$, $r=0.576$; $p=0.444$, $r=0.293$; $p=0.104$, $r=0.577$).

4.5. Ispitivanje povezanosti između različitih oboljenja srca i bubrega na nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore

4.5.1. Kardiomiopatije i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore

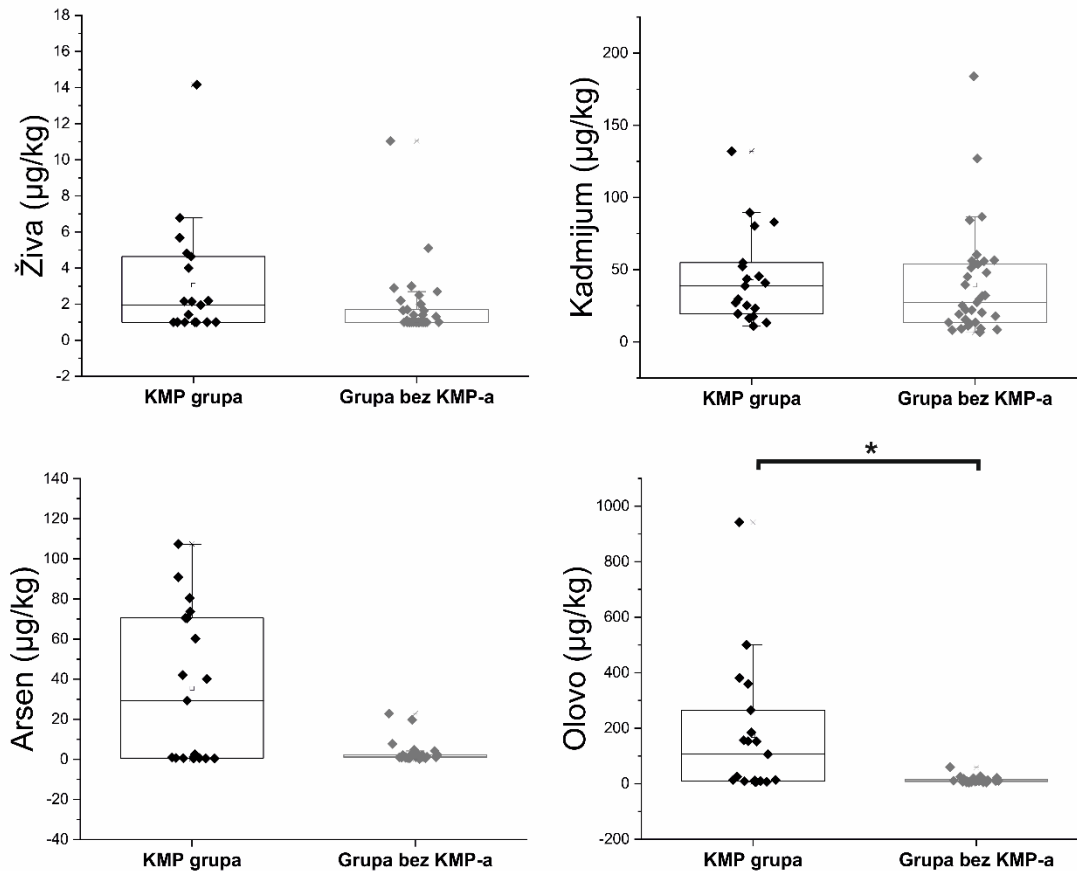
Za potrebe ove analize uključili smo 52 ispitanika prosečne starosti 69 ± 13 godina. Najmlađi uključeni pojedinac imao je 34 godine, dok je najstariji ispitanik imao 92 godine.

Ispitanici sa sekundarnom kardiomiopatijom ($n=19$) i oni bez kardiomiopatije ($n=33$) nisu se razlikovali po starosti ($p=0.226$). Od 19 uključenih slučajeva, 11 su bili muškarci, a 8 žene. Što se tiče kontrolne grupe, 19 su bili muškarci, a 14 žene.

Nismo pronašli statistički značajne razlike u koncentracijama arsena, magnezijuma, žive, gvožđa i kadmijuma, između osoba sa kardiomiopatijom i osobama bez kardiomiopatije ($p=0.143$, $p=0.071$, $p=0.164$, $p=0.925$ i $p=0.355$). Međutim, naši rezultati ukazuju da osobe kod kojih je dijagnostikovana kardiomiopatija imaju značajno više koncentracije olova, nikla, mangana i bakra u poređenju sa osobama bez kardiomiopatija ($p=0.002$, $p<0.001$, $p=0.011$ i $p=0.002$) (Slika 6).

Zanimljivo, cink je bio značajno niži kod osoba sa CMP-om nego kod osoba bez CMP-a ($p=0.017$). Osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama imale su trinaest puta veće koncentracije olova, gotovo devet puta više nikla i otprilike dvostruko više mangana.

Primećene su statistički značajne negativne korelacije između koncentracija cinka i olova u tkivu leve komore ($r=-0.534$, $p<0.001$), cinka i nikla ($r=-0.299$, $p=0.031$), kao i cinka i mangana ($r=-0.481$, $p<0.001$).



Slika 6. Koncentracije različitih metala i metaloida između ispitivanih grupa, osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama (KMP grupa) i kontrole (osobe bez KMP-a); * $p < 0.05$

4.5.2. Hronična bubrežna slabost i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore

Broj osoba koje su imale hroničnu bubrežnu slabost bio je jedanaest ($n=11$; 69 ± 14), dok je broj kontrola bio 41 (prosek godina: 69 ± 14). Statistička analiza je pokazala da nema značajne razlike u godinama ($p=0.992$). Analiza koncentracije metala pokazala je da osobe koje imaju hroničnu bubrežnu slabost imaju manju koncentraciju gvožđa u miokardu leve komore u poređenju sa osobama bez hronične bubrežne slabosti ($p=0.03$). Ostali ispitivani metali (arsen, kalcijum, kadmijum, bakar, živa, magnezijum, mangan, nikl, olovo i cink) se nisu razlikovali između grupa ($p=0.545$, $p=0.941$, $p=0.707$, $p=0.808$, $p=0.342$, $p=0.319$, $p=0.530$, $p=0.695$, $p=0.553$, $p=0.783$) (Tabela 2).

Tabela 2. Koncentracije metala i metaloida u miokardu leve komore kod osoba sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (HBI) i bez hronične bubrežne insuficijencije.

Metal/Metaloid	Grupa	Broj uzoraka	Srednja vrednost	Standardna devijacija	p-vrednost
Arsen (µg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	6.89	13.33	p=0.545
	Osobe bez HBI	n=41	16.94	30.19	
Kalcijum (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	168.99	154.54	p=0.941
	Osobe bez HBI	n=41	155.28	167.52	
Kadmijum (µg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	35.41	24.94	p=0.707
	Osobe bez HBI	n=41	42.83	37.77	
Bakar (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	5.21	3.56	p=0.808
	Osobe bez HBI	n=41	5.57	4.59	
Živa (µg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	2.75	3.01	p=0.342
	Osobe bez HBI	n=41	2.13	2.39	
Gvožđe (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	34.65	5.62	p=0.03*
	Osobe bez HBI	n=41	42.59	11.64	
Magnezijum (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	163.08	32.90	p=0.319
	Osobe bez HBI	n=41	179.06	54.08	
Mangan (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	0.2	0.11	p=0.530
	Osobe bez HBI	n=41	0.29	0.24	
Nikl (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	0.32	0.54	p=0.695
	Osobe bez HBI	n=41	0.58	0.95	
Olovo (µg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	28.16	45.12	p=0.553
	Osobe bez HBI	n=41	83.84	179.79	
Cink (mg/kg)	Osobe sa HBI	n=11	18.82	4.6	p=0.783
	Osobe bez HBI	n=41	18.45	3.87	

*p<0.05

4.5.3. Ishemijska bolest srca i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore

Broj osoba kojima je ishemijska bolest srca dijagnostikovana za života tokom hospitalizacije bio je 12 (prosek godina: 73±11), dok je broj osoba bez ishemijske bolesti bio 40 (prosek godina: 68±14). Statistička analiza je pokazala da nema značajne razlike u godinama (p=0.216). Nijedan od ispitivanih metala niti metaloida (arsen, kalcijum, kadmijum, bakar, živa, magnezijum, mangan, nikl, olovo, cink i gvožđe) nije se značajno razlikovao između dve ispitivane grupe (sa i bez ishemijske bolesti srca)

(p=0.703, p=0.546, p=0.166, p=0.721, p=0.370, p=0.374, p=0.556, p=0.439, p=0.620, p=0.754, p=0.911) (Tabela 3).

Tabela 3. Koncentracije metala i metaloida u miokardu leve komore kod osoba koje imaju ishemijsku bolest srca (IBS) i kontrola bez ishemijske bolesti.

Metal/Metaloid	Grupa	Broj uzoraka	Srednja vrednost	Standardna devijacija	p-vrednost
Arsen (µg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	18.83	30.05	p=0.703
	Osobe bez IBS	n=38	13.34	27.05	
Kalcijum (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	211.7	246.27	p=0.546
	Osobe bez IBS	n=38	138.63	117.86	
Kadmijum (µg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	29.6	20.46	p=0.166
	Osobe bez IBS	n=38	45.55	38.81	
Bakar (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	6.25	5.21	p=0.721
	Osobe bez IBS	n=38	5.22	4.05	
Živa (µg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	3.03	3.56	p=0.370
	Osobe bez IBS	n=38	1.98	1.98	
Gvožđe (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	40.24	9.4	p=0.911
	Osobe bez IBS	n=38	41.16	11.77	
Magnezijum (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	171.24	53.18	p=0.374
	Osobe bez IBS	n=38	177.7	50.44	
Mangan (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	0.28	0.24	p=0.556
	Osobe bez IBS	n=38	0.27	0.22	
Nikl (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	0.64	0.99	p=0.439
	Osobe bez IBS	n=38	0.49	0.84	
Olovo (µg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	81.34	142.45	p=0.620
	Osobe bez IBS	n=38	68.64	170.43	
Cink (mg/kg)	Osobe sa IBS	n=14	18.24	3.97	p=0.754
	Osobe bez IBS	n=38	18.64	4.05	

*p<0.05

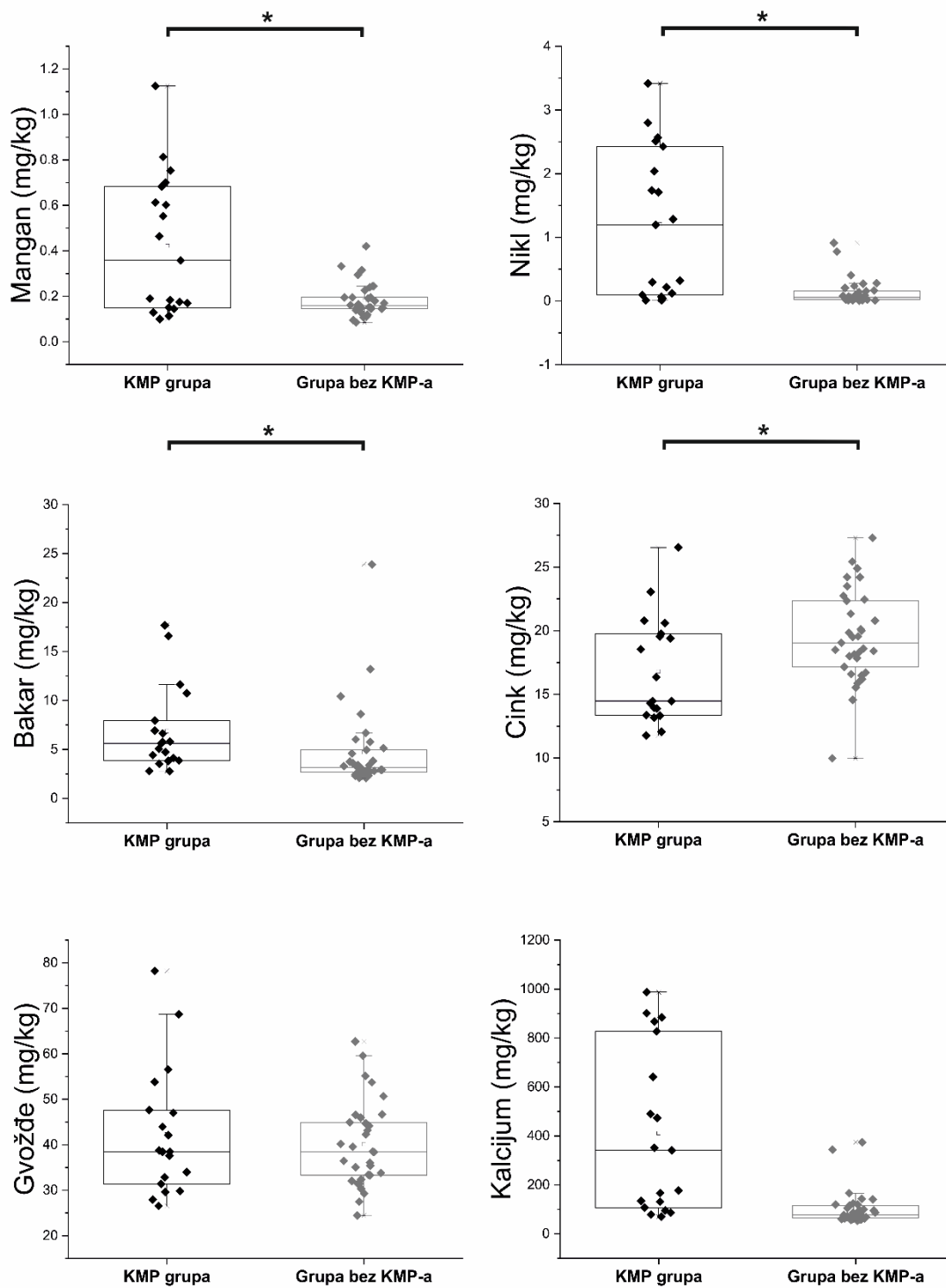
4.5.4. Srčana insuficijencija i nakupljanje metala i metaloida u miokardu leve komore

Prosek godina osoba sa srčanom insuficijencijom bio je 72 ± 12 , $n=12$, dok je kod kontrola prosek godina bio 68 ± 14 , $n=39$. Statističke razlike između grupa za godine nije bilo ($p=0.475$). Koncentracije arsena, kadmijuma, gvožđa i kalcijuma nisu se razlikovale između ispitivanih grupa ($p=0.152$, $p=0.561$, $p=0.436$, $p=0.08$). Osobe sa srčanom insuficijencijom su imale veće koncentracije bakra, nikla, magnezijuma i olova u poređenju sa kontrolama ($p=0.008$, $p=0.005$, $p=0.002$, $p=0.012$). Interesantno, osobe sa srčanom insuficijencijom su imale veće koncentracije žive u miokardu leve komore, ali je ta značajnost ostala na nivou trenda ($p=0.059$) (Tabela 4).

Tabela 4. Koncentracije metala i metaloida u miokardu leve komore kod osoba koje imaju srčanu insuficijenciju (SF) i kontrola bez srčane insuficijencije.

Metal/Metaloid	Grupa	Broj uzoraka	Srednja vrednost	Standardna devijacija	p-vrednost
Arsen ($\mu\text{g/kg}$)	Osobe sa SF	$n=12$	35.63	38.45	$p=0.152$
	Osobe bez SF	$n=39$	8.76	20.55	
Kalcijum (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	215.42	158.33	$p=0.08$
	Osobe bez SF	$n=39$	146.51	165.72	
Kadmijum ($\mu\text{g/kg}$)	Osobe sa SF	$n=12$	40.25	22.49	$p=0.561$
	Osobe bez SF	$n=39$	42.35	38.81	
Bakar (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	6.21	2.49	$p=0.008^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	4.99	4.49	
Živa ($\mu\text{g/kg}$)	Osobe sa SF	$n=12$	4.27	4.4	$p=0.059$
	Osobe bez SF	$n=39$	1.68	1.1	
Gvožđe (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	44.57	15.56	$p=0.436$
	Osobe bez SF	$n=39$	39.75	9.47	
Magnezijum (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	213.62	64.22	$p=0.011^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	165.56	39.90	
Mangan (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	0.45	0.32	$p=0.014^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	0.22	0.15	
Nikl (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	1.31	1.23	$p=0.005^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	0.3	0.59	
Olovo ($\mu\text{g/kg}$)	Osobe sa SF	$n=12$	189.05	271.26	$p=0.012^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	37.7	91.24	
Cink (mg/kg)	Osobe sa SF	$n=12$	16.3	4.97	$p=0.019^*$
	Osobe bez SF	$n=39$	19.35	3.36	

* $p < 0.05$



Slika 7. Koncentracije različitih metala između ispitivanih grupa, osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama (KMP grupa) i kontrole (osobe bez KMP-a); * $p < 0.05$.

5. DISKUSIJA

Naši rezultati ukazuju na to da se olovo i arsen deponuju unutar apeksa miokarda leve komore u većem obimu u poređenju sa bazom leve komore (Ćirović et al. 2023). Ovi rezultati pokazuju da se neki metali i metaloidi ne nakupljaju podjednako (homogeno) unutar različitih regiona leve komore. Dalje, stenoza prednje međukomorne grane leve koronarne arterije, koja je makroskopski klasifikovana kao laka, srednje teška i teška nije imala uticaja na pojačano nakupljanje metala u miokardu distalno od stenozе. Ovo se može objasniti time što određen broj osoba može imati značajnu stenozu koronarnih krvnih sudova (preko 50%) bez simptoma (Ma et al. 2019). Dobili smo statistički značajnu inverznu korelaciju između koncentracija kadmijuma distalno od stenozе i koncentracije CRP-a u krvi, dok je korelacija između koncentracije nikla distalno od stenozе i CRP-a bila statistički značajna. Naravno, ove korelacije moramo posmatrati sa velikim brojem ograničenja, a to podrazumeva da su pojedine osobe imale neko od septičnih stanja ili infekciju u trenutku kada im je meren CRP.

Međutim, naši rezultati ukazuju na to da osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama, koje imaju simptome oboljenja i čija je dijagnoza postavljena u toku bolničkog lečenja, imaju manje koncentracije cinka, a veće koncentracije olova, bakra, mangana i nikla u miokardu leve komore u poređenju sa osobama bez kardiomiopatije (Ćirović et al. 2023). Takođe, osobe kod kojih je dijagnostikovana srčana insuficijencija, imale su sličan spektar deponovanih metala u miokardu leve komore. Preciznije rečeno, oni su imali veće koncentracije olova, nikla, mangana, magnezijuma i bakra, kao i manje koncentracije cinka u poređenju sa osobama bez srčane insuficijencije. Konačno, osobe sa ishemijskom bolesti miokarda su imale slične nivoe metala i metaloida kao i osobe bez ishemijske bolesti.

Pojačano lokalno deponovanje teških metala u miokardu leve komore moglo bi da dovede do fokalnog "slabljenja" miokarda. Štaviše, ekspozicija dela miokarda velikim dozama teških metala u dovoljno dugom vremenskom periodu mogla bi da dovede do povećane lokalne destrukcije kardiomiocita i eventualno do ćelijske smrti, apoptoze. Štetni efekti teških metala na ćelije zavise od doze, budući da veće doze, kao i duže izlaganje njima, mogu izazvati ćelijsku nekrozu (Granchi et al. 1998). Destrukcija kardiomiocita bi mogla da dovede do oslobađanja velikih količina kalijuma u ekstraćelijski prostor i da izazove dezorganizaciju i odlaganje depolarizacije komora i nastanka potencijalno fatalnih aritmija.

Međutim, mehanizam koji leži iza pojačanog fokalnog nakupljanja olova i arsena u miokardu srčanog vrha ostaje nepoznat. Olovo je dvovalentno i, u slučaju da je eventualno vrh leve komore slabije prokrvljen, to bi moglo da dovede do smanjenog parcijalnog pritiska kiseonika i samim tim do slabije oksigenacije srčanog tkiva u tom predelu. Pretpostavljamo da bi to moglo da dovede do pojačanog eksprimiranja DMT-1 i TfR1 na površini ćelije i posledične povećane akumulacije olova i arsena. Verujemo da bi ovaj način akumulacije teških metala mogao da se odvija i kod osoba koje imaju koronarnu bolest srca. Naime, koronarna bolest je faktor rizika za nastanak naprasne srčane smrti (Sara et al. 2014, Chatterjee et al. 2018). Hipoksija miokarda je bazični patofiziološki mehanizam u koronarnoj bolesti, a javlja se kao rezultat nesrazmere između potreba samog miokarda i dotoka kiseonika, najčešće kao posledica uznapredovale ateroskleroze koronarnih krvnih sudova. Pošto su DMT-1 i TfR-1 pojačano eksprimirani u slučaju hipoksije, vremenom bi mesto distalno od stenozе moglo pojačano da akumulira teške metale koji se u cirkulaciji transportuju najvećim delom putem transferina (Vincent and Love 2012). Krajnji rezultat je isti kao što smo prethodno pomenuli, a tiče se pojačanog nakupljanja teških metala fokalno u miokardu, a to su ćelijska smrt kardiomiocita, oslobađanje kalijuma, nastanak aritmije i eventualne naprasne srčane smrti.

Iako su se ostali metali nakupljali homogeno, koliko naši rezultati mogu na to da ukažu, to bismo mogli da objasnimo na dva načina. Prvo, ispitivana populacija je verovatno bila izložena olovu i arsenu više nego drugim ispitivanim metalima i metaloidima. Poznato je da pojedini delovi Srbije imaju dramatično visoke vrednosti arsena u pijaćoj vodi (Stanisavljev et al. 2013, Jovanovic et al. 2011). Takođe, moguće je da pojedini metali pokazuju drugačiji "tropizam"/afinitet prema različitim tkivima; kadmijum se na primer, prvenstveno deponuje u bubrezima i jetri. Svakako, ostaje na budućim istraživanjima da na većem uzorku mapiraju koncentracije različitih metala i metaloida u tkivu leve komore. Bolje razumevanje mehanizama uključenih u nehomogeno nakupljanje pojedinih metala u srčanom tkivu bi moglo potencijalno da doprinese boljem razumevanju pojačanog nakupljanja nekih metala, kao što je olovo u kardiomiopatijama. Naši rezultati ukazuju da se olovo nejednako nakuplja u tkivu leve komore a takođe i pojačano akumulira u miokardu u nekim srčanim oboljenjima kao što su sekundarne kardiomiopatije i srčana insuficijencija.

Nismo pronašli studiju koja je analizirala više od jednog uzorka miokarda po osobi, ali postoje neke animalne studije na osnovu kojih imamo neka saznanja koja se odnose na homogenost taloženja metala u srčanom tkivu. Becker i saradnici su koristeći merenje induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom sa laserskom ablacijom analizirali distribuciju različitih metala u levoj i desnoj komori zdravih muških miševa, starosti šest meseci i pokazali da se svi analizirani elementi, a to su cink, bakar, grožđe, mangan, magnezijum i kalcijum neuniformno nakupljaju u miokardu leve i desne komore (Becker et al. 2010).

Arsen-trioksid danas se koristi za lečenje akutne promijelocitne leukemije. Pošto je naše merenje ukazalo da se arsen nejednako nakuplja u miokardu leve komore, kao i da koncentracije arsena koreliraju sa nekim morfometrijskim parametrima srca (kao što je debljina međukomorske pregrade) koji se mogu ultrasonografski meriti, a što je potvrđeno i u kliničkim studijama, preporučujemo da se arsen-trioksid sa oprezom uvodi ukoliko se pokaže da je debljina miokarda kod pacijenata uvećana. Unnikrishnan i saradnici su opservirali srčane funkcije kod 10 pacijenata koji su primali arsen-trioksid (osam muškaraca i dve žene; 34–74 godine starosti), jer su imali neki od hematoloških maligniteta (recidiv akutne mijeloidne leukemije, mijelodisplazni sindrom ili multipli mijelom)(Unnikrishnan et al. 2004). Autori ove studije su pokazali da niz kardioloških manifestacija može da se pojavi u toku samog tretmana arsen-trioksidom, kao što su preuranjene ventrikularne kontrakcije, ventrikularna i supraventrikularna tahikardija, atrioventrikularni blok, produženje QT intervala i pojava Torsade de pointes tahikardije (Unnikrishnan et al. 2001). Većina osoba koje su bile uključene u ovo istraživanje su imale neka kardiološka oboljenja uključujući koronarnu bolest srca.

Frustaci i saradnici su sprovedi studiju u kojoj su analizirali koncentracije različitih elemenata kod 13 osoba sa idiopatskom dilatativnom kardiomiopatijom koristeći neutronske aktivacione analize. Oni su uzimali endomiokardne biopsije iz vrha septalnog predela leve komore tokom kateterizacije srca. Njihovi rezultati ukazuju da osobe sa idiopatskom dilatativnom kardiomiopatijom imaju nekoliko hiljada puta veće koncentracije antimona i žive u analiziranom materijalu u poređenju sa kontrolama (Frustaci et al., 1999). Koncentracije antimona nisu bile deo analize u našem istraživanju, ostavljajući ovaj aspekt neistraženim. Što se tiče žive, naši rezultati ukazuju na povišene nivoe ovog metala u uzorcima prikupljenim od osoba sa sekundarnim kardiomiopatijama; međutim, dobijena razlika nije dostigla statističku značajnost. Nedostatak statističke značajnosti može se objasniti drugim ispitivanim mestom kao i drugom metodologijom merenja. Rahil-Khazen i saradnici su analizirali koncentracije različitih elemenata iz autopsijskih materijala 30 kadavera (17 ženskih i 13 muških) prosečne starosti 64 godine. Autori ove studije su analizirali različita druga tkiva takođe, ali mi ćemo se zadržati na analizi miokarda. Od 25 uzoraka miokarda, 12 je pripadalo osobama bez kardioloških tegoba, 6 uzoraka je pripadalo

pacijentima sa hipertrofijom miokarda, dok je ostalih 7 uzoraka uzeto sa srca osoba koje su doživele infarkt miokarda. Pošto se koncentracija svih ispitivanih elemenata nije razlikovala između kontrola i osoba sa hipertrofijom, u daljoj analizi ove dve grupe su spojene. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da osobe koje su doživele infarkt miokarda imaju manje hroma u srčanom tkivu u poređenju sa ostale dve grupe zajedno (Rahil-Khazen et al. 2002a). Kao i za ispitivanje uniformnosti deponovanja metala i metaloida u humanom miokardu, literatura vezana za merenje metala i metaloida je veoma limitirana.

U sistematskom pregledu literature, koji su sprovedli Moon i saradnici (u koji je bilo uključeno preko 20 radova), pokazano je da osobe koje žive u područjima gde je povećana izloženost arsenu imaju veći rizik od razvoja koronarne bolesti srca (Moon et al. 2012, Karachaliou et al. 2022). Pichler i saradnici su sprovedli prospektivnu kohortnu studiju na populaciji starosti između 45 i 74 godine, u kojoj su autori merili koncentracije arsena u urinu i izvršili morfometrijska merenja leve komore srca (prečnik leve pretkomore u sistoli i unutrašnji prečnik leve komore, zatim su merili debljinu međukomorne pregrade i debljinu zadnjeg zida leve komore), transtorakalnom ehokardiografijom. Utvrdili su da su debljina interventrikularnog septuma i zadnjeg zida leve komore pozitivno korelirale sa koncentracijom arsena sa početka studije. Osim toga, izloženost arsenu bila je povezana sa nastankom hipertrofije leve komore srca (Pichler et al. 2019). Zhao i saradnici su objavili metaanalizu koja je uključila 27 objavljenih radova i pokazali su da je izloženost arsenu povezana s hipertenzijom. Preciznije rečeno, radovi uključeni u ovu metaanalizu ukazivali su na vezu između hronične izloženosti arsenu i visokog sistolnog krvnog pritiska (Zhao et al. 2021).

Mana i saradnici su podelili 24 odrasla muška albino miša u četiri grupe, pri čemu je grupa 1 predstavljala kontrolnu grupu, grupa 2 je tretirana NaAsO₂ u dozi od 10 mg/kg per os tokom dva dana, grupa 3 je bila izložena istim dozama NaAsO₂ i istovremeno tretirana arjunolnom kiselinom, dok su miševi grupe 4 bili istovremeno tretirani NaAsO₂ i vitaminom C. Autori su sprovedli biohemijski i histološki pregled srca miševa na kraju eksperimenta (Manna et al. 2008). Mana i saradnici su utvrdili da su miševi tretirani NaAsO₂ imali smanjenu aktivnost sledećih antioksidanasa: superoksid dismutaze (SOD), katalaze, glutathion-S-transferaze, glutathion reduktaze i glutathion peroksidaze. Osim toga, životinje izložene NaAsO₂ imale su povećane koncentracije malondialdehida (MDA), što ukazuje na povećani oksidativni stres u miokardu. Takođe, histopatološka analiza srca miševa tretiranih sa NaAsO₂ ukazuje na prostornu dezorganizaciju kardiomiocita.

Wang i saradnici su u svojoj studiji ispitivali potencijalni protektivni uticaj salvijanolne kiseline A na kardiotoksični efekat arsen-trioksida. Za svoj eksperiment upotrebili su 60 muških pacova težine 18–20 g i podelili ih u četiri grupe. Prvu grupu su sačinjavale kontrole kojima je intraperitonealno ubrizgavan fiziološki rastvor. Druga grupa je tretirana salvijanolnom kiselinom, trećoj grupi je aplikovan arsen-trioksid, dok je četvrta grupa bila tretirana i arsen-trioksidom i salvijanolnom kiselinom (Wang et al. 2019). Oni su pokazali da su miševi tretirani samo arsen-trioksidom imali značajno redukovanu ejakcionu frakciju. Histopatološka analiza miokarda miševa tretiranih samo arsen-trioksidom je pokazala brojne histološke abnormalnosti uključujući smanjenje broja miofibrila, pa čak i nekrozu kardiomiocita. Ekstenzivnost toksičnosti arsen-trioksida se dalje ogleda u porastu aktivnosti enzima specifičnih za srce, kao što su kreatin kinaza (CK), aspartat aminotransferaza (AST) i laktat dehidrogenaza (LDH) u poređenju sa kontrolama, dok je aktivnost enzima koji pripadaju antioksidantnom sistemu, kao što su katalaza (CAT), glutathion peroksidaza (GSH-PKS) i superoksid dizmutaza (SOD) bila značajno redukovana (Wang et al. 2019).

Zhao i kolege su u prvom delu svog eksperimenta ispitivali kardioprotektivni efekat resveratrola kod miševa oba pola koji su tretirani arsen-trioksidom. Trideset i dva miša su podelili u četiri grupe. Prva grupa kontrole, druga grupa tretirana arsen-trioksidom, dok su treća i četvrta grupa bile tretirane

resveratrolom, s tim da je treća grupa dobijala i arsen-trioksid. Svi korišćeni rastvori su ubrizgavani preko repne vene. Autori su pokazali da su miševi tretirani arsen-trioksidom imali značajno produžen QT interval. Takođe, tretman arsen-trioksidom je rezultovao povećanjem aktivnosti laktat dehidrogenaze u serumu miševa koji je bio praćen padom aktivnosti superoksid dizmutaze, laktat dehidrogenaze i katalaze. Slično kao u prethodno diskutovanoj studiji, hematoksilin-eozin bojenje i patohistološka analiza su pokazali da je postojao gubitak miofibrila, vakuolizacija plazme i nekroza kardiomiocita (Zhao et al. 2008). Drugi deo studije koju su sprovedi Zhao i saradnici obuhvatao je *in vitro* analizu uticaja arsen-trioksida na H9c2 ćelijsku liniju kardiomiocita, kao i ispitivanje kardioprotektivnog dejstva resveratrola. Rezultati *in vitro* eksperimenta su pokazali da ekspozicija arsen-trioksidu vodi ka smanjenju viabilnosti kardiomiocita, zatim dolazi do indukcije apoptoze, povećanja intraćelijske koncentracije kalcijuma, kao i do aktivacije kaspaze-3 (takođe marker za apoptozu). Sva navedena oštećenja koja su indukovana arsen-trioksidom su ublažena dejstvom resveratrola (Zhao et al. 2008).

Adil i saradnici su pokazali da odrasli muški pacovi Sprague-Dawley izloženi natrijum-arsenitu (5 mg/kg, per os) i tretirani destilovanom vodom (5 mL/kg, per os) tokom 28 dana imaju smanjen broj otkucaja srca zajedno sa značajnim povećanjem QRS, QT, QTc i PR intervala u poređenju sa kontrolnom grupom (Adil et al. 2016). Pored toga, Adil i saradnici su pokazali da su pacovi tretirani NaAsO₂ imali značajno veće nivoe LDH, kreatin kinaze-miokardnog pojasa (CK-MB), aspartat aminotransferaze (AST), alanin aminotransferaze (ALT) i alkalne fosfataze (ALP), zajedno s nižom aktivnošću SOD, smanjenim nivoom glutationa (GSH) i povećanim koncentracijama MDA i NO (indikator oksidativnog stresa).

Rezultati još jednog *in vivo* istraživanja koje je uključivalo muške pacove Sprague-Dawley takođe su ukazali na povećane nivoe CK i LDH kod pacova tretiranih arsen-trioksidom intraperitonealnom injekcijom tokom 10 dana. Osim što su dobili povećane markere oksidativnog stresa (MDA) i smanjene koncentracije antioksidanasa kao što su SOD, glutation peroksidaza (GSH-Px) i katalaza (CAT) u srcima pacova tretiranih As₂O₃, Zhao i saradnici (Zhao et al. 2020) su takođe pronašli povećane nivoe proinflamatornih citokina (IL-1, IL-6 i TNF- α) u srčanom tkivu. Arsen takođe manifestuje proapoptotske efekte promovisanjem aktivnosti enzima kaspaze-3 (Adil et al. 2016) i apoptotskih gena, kao što su BAX i PUMA. Wang i Li su ispitivali efekte izloženosti olovu na ćelijama H9c2 (embrionalne ćelije srca pacova BD1X) i pokazali da izloženost olovu dovodi do povećanog oslobađanja srčanih enzima kao što su LDH, AST i CK-MB, i narušene ekspresije koneksina 43 (Wang et al. 2023, Li et al. 2021a), koji je važan za komunikaciju između susednih kardiomiocita.

Klinova i saradnici su ispitivali kardiotoksične efekte olovo acetata *in vivo*, tretirajući pacove sa 11 mg/kg telesne težine intraperitonealno tokom perioda od šest nedelja, tri puta nedeljno. Autori su primetili više vrednosti angiotenzin konvertujućeg enzima i hipertrofiju kardiomiocita u grupi izloženoj olovu (Klinova et al. 2022). Li i kolege su sprovedi *in vitro* studiju u kojoj su izložili ćelije H9c2 različitim koncentracijama olova (Pb) tokom 12, 24 i 48 sati, i pokazali da ekstenzivnost kardiotoksičnosti izazvane olovom zavisi od vremena ekspozicije i koncentracije. Iz toga proizilazi da su veće koncentracije i duže vreme ekspozicije povezani sa opsežnijim oštećenjima. Pored toga, izložene ćelije su pokazale povećanu stopu apoptoze, praćenu smanjenom ekspresijom koneksina 43 (Li et al. 2021b). Štaviše, Gerzan i kolege su izložili mužjake pacova različitim intraperitonealnim dozama olova, od 12,5 mg/kg i 6,01 mg/kg tokom perioda od pet nedelja. Njihova studija je pokazala da obe doze ometaju optimalnu interakciju aktin-miozina i posledično remete kontraktilnost kardiomiocita. Konkretno, olovo je smanjilo brzinu klizanja između filamenata (aktina i miozina) i u miokardu pretkomora i komora. S druge strane, bakar, koji u optimalnim koncentracijama ima blagotvorno dejstvo na zdravlje ljudi, može ispoljiti toksični

efekat na srce u slučajevima prekomerne akumulacije (Pan et al. 2022). Pan i saradnici su istraživali kardiotoksične efekte bakra kod dve grupe mužjaka miševa. Jedna grupa je služila kao kontrola, dok je druga grupa imala pristup ishrani bogatoj bakrom (1,08 g/kg CuCl₂) sa slobodnim pristupom vodi iz česme koja sadrži 0,1% CuCl₂. Autori su primetili smanjenje srčane frekvencije i ejskione frakcije leve komore kod miševa tretiranih bakrom, što je bilo praćeno pojavom otećenih mitohondrija.

Sistematski pregled kardiotoksičnosti izazvane manganom sugerije da Mn može dovesti do abnormalnosti na elektrokardiogramu narušavanjem funkcije mitohondrija (Jiang and Zheng 2005). S druge strane, izloženost niklu je povezana sa razvojem urođenih srćanih mana (Zhang et al. 2019).

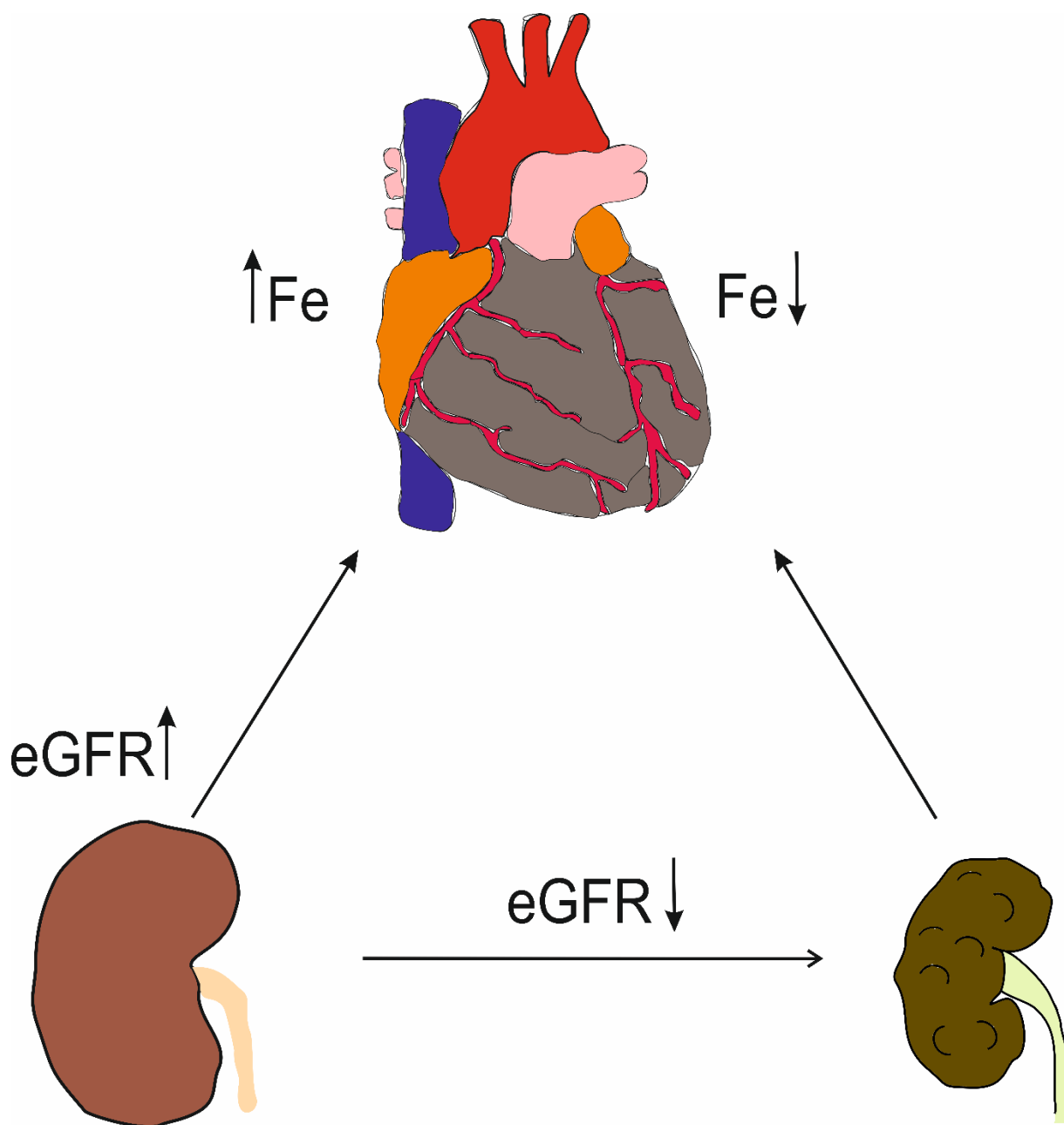
Furieri je sa kolegama izveo eksperiment u kom je mužjake Vistar pacova stare 30 dana tretirao živa-hloridom, i to prvog dana 4.6 µg/kg, a zatim do kraja eksperimenta sa 0.07 µg/kg/dan. Ekspozicija živom nije uticala na krvni pritisak pacova, niti je izazvala hipertrofiju srca, nije imala uticaja na morfometriju kardiomiocita niti ukupni sadržaj kolagena. Tretman živom je imao sledeće štetne efekte: 1) povećao dijastolni pritisak leve komore, a bez uticaja na sistolni pritisak leve komore i srćanu frekvencu; 2) β-adrenergićki odgovor kardiomiocita nije bio adekvatan; 3) aktivnost miozin ATPaze je bila pojaćana prisustvom žive; 4) ekspozicija živom je vodila smanjenju aktivnosti Na⁺-K⁺ ATPaze (Furieri et al. 2011).

Izlaganje teškim metalima predstavlja ozbiljnu pretnju za kardiovaskularni sistem, što je pokazano velikim brojem *in vivo* studija, a takođe je to zaključak velikog broja epidemioloških studija čije smo rezultate i zapažanja diskutovali u uvodu ove teze. Na ćelijskom nivou, ekspozicija teškim metalima vodi ka disbalasu antioksidativnog sistema, i generisanja velike kolićine reaktivnih kiseonićnih radikala koji vode peroksidaciji makromolekula, kao što su lipidi, proteini i dezoksiribonukleinska kiselina (DNK)(Renu et al. 2021, Lopes et al. 2016, Sharma et al. 2023).

Postoje najmanje dva nezavisna mehanizma ukljućena u oštećenje tkiva u slućaju nedostatka cinka. Prvo, cink je sastavni deo antioksidativnog sistema, a kada je prisutan u niskim koncentracijama, prooksidativni efekti teških metala mogu postati dominantni. Cink je kofaktor citosolne i ekstracelularne superoksid dizmutaze (Zn/Cu SOD), koji deluje kao ćistać za slobodne kiseonićne radikale (reactive oxygen species; ROS) katalizujući transformaciju O₂⁻ jona u O₂ i H₂O₂ (Jarosz et al. 2017). Drugo, cink igra kljućnu ulogu u indukovanju sinteze metalotioneina (Jarosz et al. 2017), kao što su pokazali Schanz i saradnici (Schanz et al. 2017), a nedostatak cinka moće dovesti do smanjenog obima sinteze metalotioneina. Kada su ćelijski nivoi metalotioneina nedovoljni, teški metali nisu vezani za njih, i kao rezultat toga, slobodni teški metali mogu ispoljiti svoje toksićne efekte. Dobar primer da je potrebno odrćavati poželjne koncentracije cinka u krvi pokazano je na prikazu slućaja koji su publikovali Rosenblum i saradnici (Rosenblum et al. 2020). Oni su predstavili slućaj 24-godišnje žene sa anoreksijom, nervozom i novonastalom srćanom insuficijencijom, ćija se redukovana sistolna funkcija leve komore poboljšala nakon suplementacije cinkom. Izmerena koncentracija cinka na prijemu je bila 23 µg/dL, dok je normalan opseg 70–120 µg/dL (Rosenblum et al. 2020). Frustaci i saradnici su sprovedi ćitav set analiza uzoraka leve komore (histopatološka analiza, merenje koncentracije razlićitih metala i metaloida, odrećivanje nivoa glutation peroksidaze) dobijenih endomiokardnim biopsijama kod 18 pacijenata koji su imali dilatativnu kardiomiopatiju i malnutritivne tegobe (Frustaci et al. 2012). U ovoj studiji autori su pokazali znaćajno smanjenje koncentracije selena i cinka u miokardu i serumu kod pacijenata sa kardiomiopatijom i intestinalnom malapsorpcijom u porećenju sa ispitanicima kod kojih je dijagnostikovana idiopatska dilatativna kardiomiopatija i kontrolama (Frustaci et al. 2012).

Anemija usled nedostatka gvoćđa je ćesta komplikacija koja se javlja kod pacijenata sa hronićnom bubrežnom slabošću (Gafer-Gvili et al. 2019). Više faktora utiće na to da osobe sa hronićnom

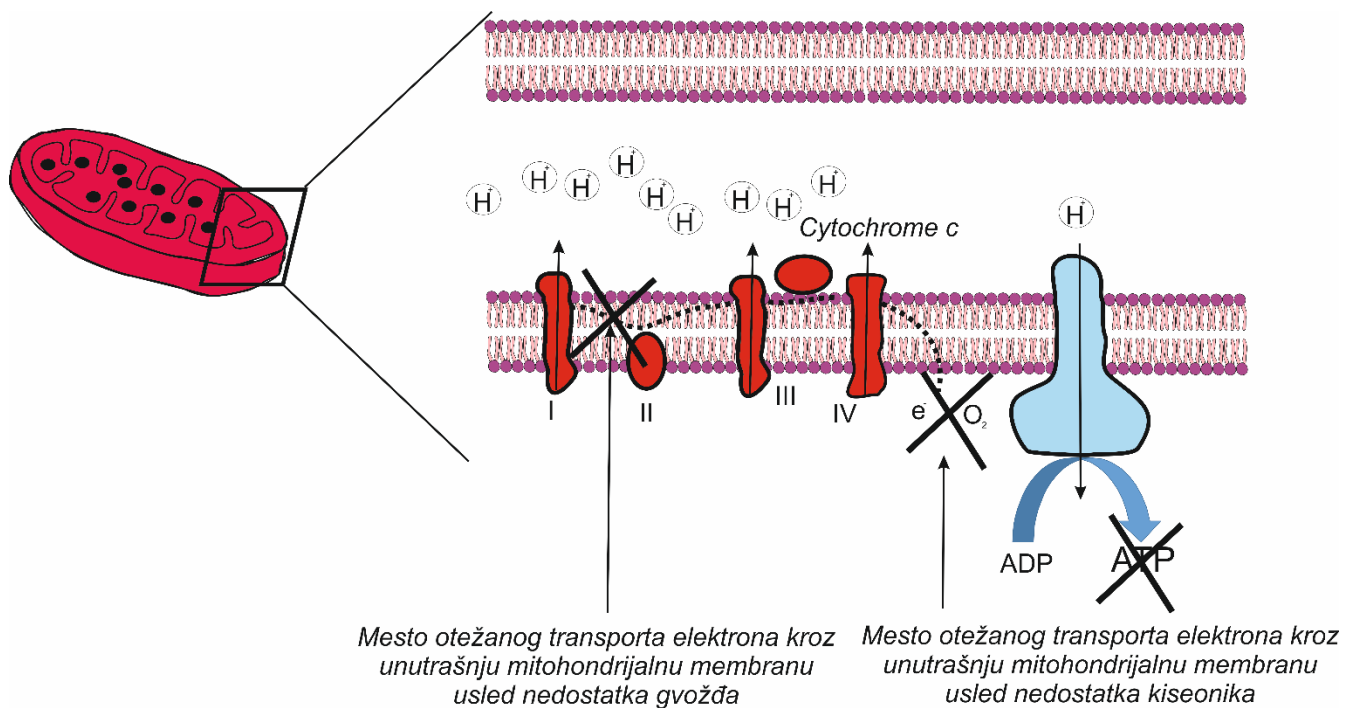
bubrežnom slabošću imaju nedostatak gvožđa u krvi, a kako naši rezultati ukazuju, i manje koncentracije gvožđa u samim kardiomiocitima. Mehanizmi odgovorni za ovu pojavu su smanjeni bubrežni klirens, povećane vrednosti inflamatornih citokina u cirkulaciji i smanjen nivo sinteze eritropoetina (Babitt and Lin 2010, Kato et al. 2007, Van der Weerd et al. 2012). Gupta i saradnici su ispitivali povezanost između parametara bubrežne funkcije (brzina glomerulske filtracije; GFR i nivo albuminurije) i panela zapaljenjskih citokina, uključujući i reaktante akutne faze na 3939 osoba sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (Gupta et al. 2012). Njihovi rezultati pokazuju da su nivoi proinflamatornih citokina (interleukin 6; IL-6, interleukin 1 β ; IL-1 β i faktor nekroze tumora; TNF α) i proteina akutne faze (fibrinogen) bili viši kod osoba sa oslabljenom funkcijom bubrega i višim nivoima albuminurije. S druge strane, pokazano je da vrednosti hepcidina koreliraju sa vrednostima IL-6 i CRP-a (Suega and Widiana 2019). Hecpidin je protein koji proizvode hepatociti, a služi kao jedan od proteina koji regulišu resorpciju gvožđa iz creva (Collins et al. 2008); preciznije rečeno, hepcidin se vezuje za ferroportin, protein koji se nalazi na bazolateralnoj membrani enterocita i vrši eksportovanje intracelularnog (resorbovanog) gvožđa u sistemsku cirkulaciju, i pravi hepcidin-feroportin kompleks. Hecpidin-feroportin kompleks zatim podleže procesu degradacije unutar ćelije. Ovaj mehanizam je u osnovi nastanka anemije u hroničnoj bubrežnoj insuficijenciji, ali nijedna studija do sada nije utvrdila da osobe sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom imaju manje količine gvožđa u miokardu u poređenju sa osobama bez hronične bubrežne insuficijencije (Slika 8).



Slika 8. Šematski prikaz odnosa brzine glomerulske filtracije i koncentracije gvožđa u miokardu.

Za razliku od većine drugih ćelija, kardiomiociti su ćelije koje neprekidno rade tokom celog života. Da bi kontinuirano proizvodili energiju, kardiomiociti sadrže veliki broj mitohondrija, a β -oksidacija masnih

kiselina glavni je izvor energije. U svakom ciklusu, masna kiselina postaje kraća za jednu acetyl-CoA grupu koja zatim ulazi u ciklus limunske kiseline. U procesu oksidativne fosforilacije, elektroni se transportuju kroz unutrašnju mitohondrijalnu membranu da bi se stvorio protonski gradijent između strana unutrašnje mitohondrijalne membrane i posledično se sintetiše ATP. Fe-S klasteri su deo NADH-ubihinon oksidoreduktaze i sukcinat dehidrogenaze. Da bi pravilno funkcionisali, Fe-S klasteri, kao i citohrom c, citohrom b i citohrom a1-a3, zahtevaju gvožđe, stoga nedostatak gvožđa smanjuje transport elektrona i ATP se ne može dovoljno proizvesti (Slika 9). S druge strane, tokom oksidativne fosforilacije kiseonik je krajnji primalac elektrona, tako da će nedostatak gvožđa ili kiseonika u ćelijama konačno dovesti do iscrpljivanja sinteze ATP-a (Hoes et al. 2018). Kao posledica toga, anaerobna glikoliza, gde su daleko manje produkcije ATP-a, postaje glavni izvor ATP-a. Dakle, bilo da u ćeliji nema dovoljno kiseonika ili gvožđa, krajnji ishod je vrlo sličan, a to je smanjena produkcija ATP-a (Slika 9).



Slika 9. Šematski prikaz otežanog transporta elektrona u slučaju nedostatka gvožđa i kiseonika.

Hirsch i saradnici su analizirali koncentracije gvožđa u 80 pacijenata (53 muškarca i 23 osobe ženskog pola) sa srčanom insuficijencijom (NYHA skor II i III) sa redukovanom ejekcionom frakcijom $\leq 40\%$ starijih od 18 godina. Uzorci miokarda leve komore su dobijeni endomiokardnom biopsijom tokom angiografije. Autori ovog rada su pokazali da su osobe sa manjom koncentracijom gvožđa u miokardu leve komore imale veći pritisak u levoj komori na kraju dijastole i teži oblik srčane insuficijencije (Hirsch et al. 2020). Maeder i saradnici su ispitivali koncentracije gvožđa u miokardu 25 osoba sa uznapredovalom srčanom insuficijencijom (ejekciona frakcija leve komore $< 35\%$) i 9 kontrola, i to atomskom absorpcionom spektrofotometrijom, i pokazali da osobe sa srčanom insuficijencijom imaju manje koncentracije gvožđa u poređenju sa kontrolama (Maeder et al. 2011).

Preko 17 miliona ljudi širom sveta godišnje umire od posledica kardiovaskularnih oboljenja, a smrtnost od kardiovaskularnih oboljenja je 10–30 puta veća kod osoba sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom. Kompleksan multiorganski poremećaj koji zahvata srce, bubrege i krvne sudove naziva se kardioresnalni sindrom (Savira et al. 2020). Kardioresnalni sindrom je podeljen u pet glavnih tipova. Prvi i drugi tip obuhvataju primarni poremećaj srčane funkcije koji dovodi do sekundarne akutne ili hronične bubrežne insuficijencije. Tipovi 3 i 4 – koji se još nazivaju renokardijalni sindrom – uključuju akutno, odnosno hronično smanjenje bubrežne funkcije, koja sekundarno dovodi do srčane slabosti; a kod tipa 5 – koji se takođe naziva sekundarni kardioresnalni sindrom – podrazumeva povrede bubrega i srca koji se javljaju u toku teških sistemskih poremećaja, kao što su sepsa (Kotecha et al. 2018, Vallabhajosyula et al. 2018), ciroza jetre, autoimuna oboljenja ili retko trudnoća (Ilagan et al. 2022, Mehta et al. 2013).

Mehanizmi uključeni u progresiju kardioresnalnog sindroma su višestruki. Jedan od ključnih faktora koji doprinosi progresiji kardioresnalnog sindroma je neurohormonske prirode i podrazumeva disbalans između renin-angiotenzin-aldosteron sistema, atrijskog natriuretskog peptida i simpatičkog nervnog sistema. Kao doprinoseći faktori u literaturi se spominju i sistemska inflamacija, oksidativni stres, disfunkcija endotela. U slučaju pojave anemije, mortalitet od kardioresnalnog sindroma dodatno raste (Pallangyo et al. 2017).

Smanjen minutni volumen srca dovodi do hipoperfuzije bubrega. Kao kompenzatorni mehanizam bubreg zauzvrat indukuje zadržavanje natrijuma radi očuvanja zapremine plazme aktivacijom renin-angiotenzin-aldosteron sistema (RAAS). Povećani nivoi natrijuma izazivaju sužavanje aferentnih arteriola glomerula, smanjujući brzinu glomerularne filtracije. Kako bi se održala brzina glomerulske filtracije dolazi do vazokonstrikcije eferentnih arteriola. Međutim, vazokonstrikcija dodatno smanjuje perfuziju bubrega i, ukoliko potraje duži vremenski period, izaziva oštećenje bubrega usled hipoksije. Proizvodnja aldosterona takođe podstiče intenziviranu reapsorpciju natrijuma u distalnim tubulima bubrega, što dovodi do preopterećenja zapreminom i širenja ekstracelularne tečnosti. Ovde moramo da skrenemo pažnju da aldosteron ne samo da podstiče resorpciju natrijuma već dovodi i do smanjenja gustine transferinskog receptora na površini kardiomiocita (Maeder et al. 2011).

Angiotenzin II, ključna karika renin-angiotenzin-aldosteron sistema, uzrokuje zadržavanje vode i natrijuma povećanjem ekspresije transportera za natrijum u proksimalnim tubulima bubrega. Angiotenzin II takođe podstiče proizvodnju aldosterona, koji deluje na mineralokortikoidne receptore, bubrežne distalne tubule i sabirne kanale potencirajući zadržavanje natrijuma. Pored toga, i angiotenzin II i aldosteron stimulišu progresiju fibroze miokarda stimulisanjem faktora rasta fibroblasta i sinteze kolagena (See et al. 2005), dok losartan i spironolakton uspešno preveniraju nastanak fibroze miokarda (Silvestre et al. 1999).

Štaviše, kardiomiociti podležu hipertrofiji da bi kompenzovali povećan volumen tečnosti u krvnim sudovima. Tri od četiri osobe koje su u terminalnom stadijumu bubrežne insuficijencije imaju hipertrofiju miokarda leve komore (Foley et al. 1998). Sa napredovanjem bubrežne insuficijencije hiperaktivacija simpatičkog nervnog sistema je neophodna za održavanje minutnog volumena srca a kao odgovor na ishemiju bubrega. Posledično dolazi do povećanja sinteze i sekrecije angiotenzina II i noradrenalina i smanjenja azot-oksida (NO), što dovodi do hipertenzije i hipertrofije miokarda leve komore. Kao i aldosteron, noradrenalin redukuje broj Tfr1 na površini kardiomiocita (Maeder et al. 2011). Aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sistema, ne samo da hemodinamski opterećuje miokard i dovodi do nastanka intersticijalne fibroze istog, već ima i nepovoljan efekat na deponovanje gvožđa unutar srčanog mišića.

Prvo, pošto smo pokazali da se koncentracije nekih metala i metaloida, specifično arsena i olova, mogu razlikovati unutar različitih delova miokarda leve komore, preporučujemo da buduće studije

uzorkuju najmanje dva mesta kada se rade ispitivanja koja se tiču taloženja različitih metala i metaloida. Ovakav način uzorkovanja je važan jer nakupljanje metala i metaloida u tkivu miokarda nije uniformno. Kako koncentracije nekih kardiotoksičnih metala nisu analizirale aluminijum, koji je takođe štetan za srce (Novaes et al. 2018), buduće studije će, nadamo se, uraditi detaljno mapiranje akumulacije za većinu metala i metaloida, jer samo tako možemo bolje da razumemo ulogu različitih metala i metaloida u nastanku različitih oboljenja miokarda. Takođe, analiza šireg spektra metala i metaloida kod osoba sa kardiomiopatijama, srčanom insuficijencijom i ishemijskom bolešću srca, kao i korelacija koncentracija ovih metala i metaloida sa ejectionom frakcijom leve komore, doprinela bi razvijanju preventivnih programa.

Pošto je ova studija dizajnirana kao studija preseka, nije moguće utvrditi povezanost odnosa povećane koncentracije dobijenih metala i metaloida sa nastankom i progresijom sekundarnih kardiomiopatija i srčane insuficijencije, već samo da određena povezanost, koja nije upitna, postoji. Drugim rečima, nije moguće utvrditi da li je ekspozicija ovim elementima dovela do nastanka oboljenja ili je bolest (kardiomiopatija, srčana insuficijencija) uzrokovana nekim drugim faktorima, pa je tako izmenjen miokard počeo pojačano da deponuje pojedine metale, bilo zbog hipoksije ili zbog pojačane ekspozicije. Prospektivna longitudinalna studija, gde bi se metali i metaloidi merili na početku studije a onda se pratilo zdravstveno stanje pacijenta u smislu nastanka eventualnih srčanih oboljenja i ponovnih merenja metala i metaloida, doprinela bi boljem razumevanju kauzalnosti odnosa.

Takođe, moguće je da su osobe u Srbiji pojačano izložene olovu, bakru, niklu i manganu. S druge strane, na Dalekom istoku, kadmijum predstavlja veliki javnozdravstveni problem i moguće da bi drugi set metala i metaloida mogao da dovede do nastanka kardiomiopatija takođe.

6. ZAKLJUČCI:

- Pojedini metali i metaloidi, arsen i olovo, ne nakupljaju se u miokardu leve komore u jednakim koncentracijama (homogeno). Naši rezultati ukazuju na veće koncentracije olova i arsena u apikalnom miokardu negoli u miokardu baze leve komore;
- Stenoza prednje međukomorne grane leve koronarne arterije, koja je makrosposki procenjivana kao laka, srednje teška i teška, nije imala uticaj na pojačano nakupljanje metala i metaloida distalno od stenozе;
- Dobili smo statistički značajnu inverznu korelaciju između koncentracija kadmijuma distalno od stenozе i koncentracije CRP-a u krvi, dok je korelacija između koncentracija nikla distalno od stenozе i CRP-a bila statistički značajna.
- Osobe sa sekundarnim kardiomiopatijama imaju povećane vrednosti olova, mangana, nikla i bakra u miokardu leve komore u poređenju sa kontrolama. Koncentracije cinka bile su značajno snižene u miokardu osoba sa sekundarnim kardiomiopatijama; s druge strane osobe sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom imaju značajno snižene koncentracije gvožđa u miokardu leve komore.
- Osobe sa srčanom insuficijencijom su imale povećane vrednosti olova, nikla, bakra, mangana i magnezijuma, a niže vrednosti cinka u poređenju sa osobama bez srčane insuficijencije.
- Osobe sa ishemijskom bolešću miokarda nisu imale niti uvećane niti umanjene koncentracije metala i metaloida u poređenju sa osobama bez ishemijske bolesti.

7. LITERATURA

- Adil, M., et al. 2016. Sodium arsenite-induced myocardial bruise in rats: Ameliorative effect of naringin via TGF- β /Smad and Nrf/HO pathways. *Chemico-Biological Interactions*, 253, 66-77.
- Ammirati, A. L. 2020. Chronic kidney disease. *Revista da Associacao Medica Brasileira*, 66, s03-s09.
- Asgary, S., et al. 2017. Serum levels of lead, mercury and cadmium in relation to coronary artery disease in the elderly: A cross-sectional study. *Chemosphere*, 180, 540-544.
- Baba, H., et al. 2013. The liver in itai-itai disease (chronic cadmium poisoning): pathological features and metallothionein expression. *Modern Pathology*, 26(9), 1228-1234.
- Babitt, J. L. and Lin, H. Y. 2010. Molecular mechanisms of hepcidin regulation: implications for the anemia of CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 55(4), 726-741.
- Baillie, G. R., Uhlig, K. and Levey, A. S. 2005. Clinical practice guidelines in nephrology: evaluation, classification, and stratification of chronic kidney disease. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 25(4), 491-502.
- Becker, J. S., et al. 2010. Bioimaging of metals and biomolecules in mouse heart by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and secondary ion mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 82(22), 9528-9533.
- Bikbov, B., et al. 2020. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 395(10225), 709-733.
- Brook, R. D., et al. 2010. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: An update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 121(21), 2331-2378.
- Cabrera, C., et al. 2023. Relationship between iron deficiency and expression of genes involved in iron metabolism in human myocardium and skeletal muscle. *International Journal of Cardiology*, 379, 82-88.
- Chatterjee, N. A., et al. 2018. Sudden Death in Patients With Coronary Heart Disease Without Severe Systolic Dysfunction. *JAMA Cardiology*, 3(7), 591-600.
- Ćirović, A., et al. 2023. Trace Element Concentrations in Autopsied Heart Tissues from Patients with Secondary Cardiomyopathy. *Biological Trace Element Research*.
- Cirovic, A. and Cirovic, A. 2023. Iron deficiency as a promoter of cadmium-induced cardiotoxicity. *European Heart Journal*, 44(28), 2639-2640.
- Cirovic, A. and Tasic, N. Accumulation of metal(oids) in myocardial tissue and the mechanisms underlying their cardiotoxic effects. *Medicinski podmladak 2023*; DOI 10.5937/mp74-46164.
- Cirovic, A., et al. 2022. A hypoxia-driven occurrence of chronic kidney disease and osteoporosis in COPD individuals: New insights into environmental cadmium exposure. *Toxicology*, 482, 153355.
- Cirovic, A., et al. 2023. Non-Uniform Bioaccumulation of Lead and Arsenic in Two Remote Regions of the Human Heart's Left Ventricle: A Post-Mortem Study. *Biomolecules*, 13(8).
- Collins, J. F., Wessling-Resnick, M. and Knutson, M. D. 2008. Hepcidin regulation of iron transport. *Journal of Nutrition*, 138(11), 2284-2288.
- Dai, H., et al. 2020. Global, regional, and national burden of ischaemic heart disease and its attributable risk factors, 1990–2017: results from the Global Burden of Disease Study 2017. *European Heart Journal - Quality of Care and Clinical Outcomes*, 8(1), 50-60.
- Egger, A. E., et al. 2019. Chemical imaging and assessment of cadmium distribution in the human body. *Metallomics*, 11(12), 2010-2019.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S. and Sarnak, M. J. 1998. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 9(12 Suppl), S16-23.

Foreman, K. J., et al. 2018. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–40 for 195 countries and territories. *The Lancet*, 392(10159), 2052-2090.

Frustaci, A., et al. 1999. Marked elevation of myocardial trace elements in idiopathic dilated cardiomyopathy compared with secondary cardiac dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*, 33(6), 1578-1583.

Frustaci, A., et al. 2012. Selenium- and zinc-deficient cardiomyopathy in human intestinal malabsorption: preliminary results of selenium/zinc infusion. *European Journal of Heart Failure*, 14(2), 202-210.

Furieri, L. B., et al. 2011. Exposure to low mercury concentration in vivo impairs myocardial contractile function. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 255(2), 193-199.

Gafter-Gvili, A., Schechter, A. and Rozen-Zvi, B. 2019. Iron deficiency anemia in chronic kidney disease. *Acta Haematologica*, 142(1), 44-50.

Granchi, D., et al. 1998. Cell death induced by metal ions: necrosis or apoptosis? *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9(1), 31-37.

Gunshin, H., et al. 1997. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 388(6641), 482-488.

Gupta, J., et al. 2012. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 7(12), 1938-1946.

Hassanvand, M. S., et al. 2015. Characterization of PAHs and metals in indoor/outdoor PM10/PM2.5/PM1 in a retirement home and a school dormitory. *Science of the Total Environment*, 527-528, 100-110.

Hirsch, V. G., et al. 2020. Cardiac iron concentration in relation to systemic iron status and disease severity in non-ischaeamic heart failure with reduced ejection fraction. *European Journal of Heart Failure*, 22(11), 2038-2046.

Hoes, M. F., et al. 2018. Iron deficiency impairs contractility of human cardiomyocytes through decreased mitochondrial function. *European Journal of Heart Failure*, 20(5), 910-919.

Ilgan, J., et al. 2022. Type 5 Cardiorenal Syndrome: An Underdiagnosed and Underrecognized Disease Process of the American Mother. *Journal of Clinical Medicine Research*, 14(10), 395-399.

Jalali, S., et al. 2021. Long-term exposure to PM2.5 and cardiovascular disease incidence and mortality in an Eastern Mediterranean country: findings based on a 15-year cohort study. *Environmental Health*, 20(1), 112.

Jarosz, M., et al. 2017. Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- κ B signaling. *Inflammopharmacology*, 25(1), 11-24.

Jiang, Y. and Zheng, W. 2005. Cardiovascular toxicities upon manganese exposure. *Cardiovascular Toxicology*, 5, 345-354.

Jovanovic, D., et al. 2011. Arsenic occurrence in drinking water supply systems in ten municipalities in Vojvodina Region, Serbia. *Environmental Research*, 111(2), 315-318.

Karachaliou, C., et al. 2022. Arsenic exposure promotes the emergence of cardiovascular diseases. *Reviews on Environmental Health*, 37(4), 467-486.

Kato, A., et al. 2007. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. *American Journal of Nephrology*, 28(1), 115-121.

Khan, M. A., et al. 2020. Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus*, 12(7), e9349.

Kim, Y. and Park, S. 2014. Iron deficiency increases blood concentrations of neurotoxic metals in children. *Korean Journal of Pediatrics*, 57(8), 345-350.

Klaassen, C. D., Liu, J. and Diwan, B. A. 2009. Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238(3), 215-220.

Klinova, S. V., et al. 2022. Changes in the Cardiotoxic Effects of Lead Intoxication in Rats Induced by Muscular Exercise. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4417.

Kobayashi, M., et al. 2018. Pathological roles of iron in cardiovascular disease. *Current Drug Targets*, 19(9), 1068-1076.

Kotecha, A., et al. 2018. Cardiorenal syndrome in sepsis: A narrative review. *Journal of Critical Care*, 43, 122-127.

Kremastinos, D. T., et al. 1993. Left ventricular diastolic Doppler characteristics in beta-thalassemia major. *Circulation*, 88(3), 1127-1135.

Leem, A. Y., et al. 2015. Relationship between blood levels of heavy metals and lung function based on the Korean National Health and Nutrition Examination Survey IV–V. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 1559-1570.

Levey, A. S. and Coresh, J. 2012. Chronic kidney disease. *The Lancet*, 379(9811), 165-180.

Li, C., et al. 2021a. Lead-induced cardiomyocytes apoptosis by inhibiting gap junction intercellular communication via autophagy activation. *Chemico-biological interactions*, 337, 109331.

Lopes, A. C., et al. 2016. Lead Exposure and Oxidative Stress: A Systematic Review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 236, 193-238.

Ma, X., et al. 2019. Predicting asymptomatic coronary artery stenosis by aortic arch plaque in acute ischemic cerebrovascular disease: beyond the cervicocephalic atherosclerosis? *Chinese Medical Journal (Engl.)*, 132(8), 905-913.

Maduabuchi, J.-M., et al. 2006. Lead and cadmium exposures from canned and non-canned beverages in Nigeria: a public health concern. *Science of the Total Environment*, 366(2-3), 621-626.

Maeder, M. T., et al. 2011. Myocardial and Systemic Iron Depletion in Heart Failure: Implications for Anemia Accompanying Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(5), 474-480.

Malamba-Lez, D., et al. 2021. Concurrent Heavy Metal Exposures and Idiopathic Dilated Cardiomyopathy: A Case-Control Study from the Katanga Mining Area of the Democratic Republic of Congo. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(9), 4956.

Manna, P., Sinha, M. and Sil, P. C. 2008. Arsenic-induced oxidative myocardial injury: protective role of arjunolic acid. *Archives of Toxicology*, 82, 137-149.

Maron, B. J., et al. 2006. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure and transplantation committee; quality of care and outcomes research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups; and council on epidemiology and prevention. *Circulation*, 113(14), 1807-1816.

Mehta, R. L., et al., 2013. Cardiorenal syndrome type 5: clinical presentation, pathophysiology and management strategies from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). *ADQI Consensus on AKI Biomarkers and Cardiorenal Syndromes*. Karger Publishers, 174-194.

Moon, K., Guallar, E. and Navas-Acien, A. 2012. Arsenic exposure and cardiovascular disease: an updated systematic review. *Current atherosclerosis reports*, 14, 542-555.

Nguyen, H. D., et al. 2021. Association between heavy metals, high-sensitivity C-reaction protein and 10-year risk of cardiovascular diseases among adult Korean population. *Scientific Reports*, 11(1), 14664.

Nigra, A. E., et al. 2021. Urinary arsenic and heart disease mortality in NHANES 2003-2014. *Environmental Research*, 200, 111387.

Novaes, R. D., et al. 2018. Aluminum: A potentially toxic metal with dose-dependent effects on cardiac bioaccumulation, mineral distribution, DNA oxidation and microstructural remodeling. *Environ Pollut*, 242(Pt A), 814-826.

Oh, C. M., et al. 2014. Blood cadmium levels are associated with a decline in lung function in males. *Environmental Research*, 132, 119-125.

Oshunbade, A. A., et al. 2021. Cigarette Smoking, Incident Coronary Heart Disease, and Coronary Artery Calcification in Black Adults: The Jackson Heart Study. *J Am Heart Assoc*, 10(7), e017320.

Oudit, G. Y., et al. 2006. Role of L-type Ca²⁺ channels in iron transport and iron-overload cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 84(5), 349-364.

Pál, L., et al. 2022. Health and economic gain attributable to the introduction of the World Health Organization's drinking water standard on arsenic level in Hungary: A nationwide retrospective study on cancer occurrence and ischemic heart disease mortality. *Science of the Total Environment*, 851, 158305.

Pallangyo, P., et al. 2017. Cardiorenal Anemia Syndrome and Survival among Heart Failure Patients in Tanzania: A Prospective Cohort Study. *BMC Cardiovascular Disorders*, 17(1), 59.

Pan, M., et al. 2022. Long-term exposure to copper induces mitochondria-mediated apoptosis in mouse hearts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 234, 113329.

Pichler, G., et al. 2019. Association of arsenic exposure with cardiac geometry and left ventricular function in young adults: evidence from the Strong Heart Family Study. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 12(5), e009018.

Rahil-Khazen, R., et al. 2002a. Multi-element analysis of trace element levels in human autopsy tissues by using inductively coupled atomic emission spectrometry technique (ICP-AES). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 16(1), 15-25.

Rahil-Khazen, R., et al. 2002b. Multi-element analysis of trace element levels in human autopsy tissues by using inductively coupled atomic emission spectrometry technique (ICP-AES). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 16(1), 15-25.

Renu, K., et al. 2021. Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium) - induced hepatotoxicity - A review. *Chemosphere*, 271, 129735.

Repčić, A., et al. 2020. The influence of smoking habits on cadmium and lead blood levels in the Serbian adult people. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(1), 751-760.

Rosenblum, H., et al. 2020. Zinc Deficiency as a Reversible Cause of Heart Failure. *Texas Heart Institute Journal*, 47(2), 152-154.

Sara, J. D., et al. 2014. Sudden cardiac death from the perspective of coronary artery disease. *Mayo Clinic Proceedings*, 89(12), 1685-1698.

Savarese, G., Anker, M. S. and Anker, S. D. 2023. Iron deficiency as a promoter of cardiotoxicity: not only cadmium-induced. *European Heart Journal*, 44(28), 2641.

Savarese, G., et al. 2022. Iron deficiency and cardiovascular disease. *European Heart Journal*, 44(1), 14-27.

Savira, F., et al. 2020. Cardiorenal syndrome: Multi-organ dysfunction involving the heart, kidney and vasculature. *British Journal of Pharmacology*, 177(13), 2906-2922.

Schanz, M., et al. 2017. Renal effects of metallothionein induction by zinc in vitro and in vivo. *BMC Nephrology*, 18, 1-8.

Schwartz, J. 1991. Lead, blood pressure, and cardiovascular disease in men and women. *Environmental Health Perspectives*, 91, 71-75.

See, F., et al. 2005. Fibrosis as a therapeutic target post-myocardial infarction. *Current Pharmaceutical Design*, 11(4), 477-487.

Shah, Y. M., et al. 2009. Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency. *Cell Metabolism*, 9(2), 152-164.

Shakeri, M. T., et al. 2021. Assessing Heavy Metal Burden Among Cigarette Smokers and Non-smoking Individuals in Iran: Cluster Analysis and Principal Component Analysis. *Biological Trace Element Research*, 199(11), 4036-4044.

Sharma, M., Khan, F. H. and Mahmood, R. 2023. Nickel chloride generates cytotoxic ROS that cause oxidative damage in human erythrocytes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 80, 127272.

Silvestre, J.-S., et al. 1999. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation*, 99(20), 2694-2701.

- Song, Y., et al. 2017. Dietary cadmium exposure assessment among the Chinese population. *PloS One*, 12(5), e0177978.
- Stanisavljev, B., et al., Arsenic in drinking water in Northern region of Serbia. ed. Proceedings of the 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment, 2013.
- Steptoe, A., et al. 2000. Health related quality of life and psychological wellbeing in patients with dilated cardiomyopathy. *Heart*, 83(6), 645-650.
- Suega, K. and Widian, G. R. 2019. Predicting hepcidin level using inflammation markers and iron indicators in patients with anemia of chronic disease. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 41(4), 342-348.
- Unnikrishnan, D., et al. 2004. Cardiac monitoring of patients receiving arsenic trioxide therapy. *British Journal of Haematology*, 124(5), 610-617.
- Unnikrishnan, D., et al. 2001. Torsades de pointes in 3 patients with leukemia treated with arsenic trioxide. *Blood*, 97(5), 1514-1516.
- Urch, B., et al. 2004. Relative contributions of PM_{2.5} chemical constituents to acute arterial vasoconstriction in humans. *Inhalation Toxicology*, 16(6-7), 345-352.
- Vallabhajosyula, S., et al. 2018. Clinical profile and outcomes of acute cardiorenal syndrome type-5 in sepsis: An eight-year cohort study. *PloS One*, 13(1), e0190965.
- Van der Weerd, N. C., et al. 2012. Hepcidin-25 in chronic hemodialysis patients is related to residual kidney function and not to treatment with erythropoiesis stimulating agents. *PloS One*, 7(7), e39783.
- Vincent, J. B. and Love, S. 2012. The binding and transport of alternative metals by transferrin. *Biochim Biophys Acta*, 1820(3), 362-378.
- Wang, J. J. 2021. Risk of Coronary Heart Disease in People with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Meta-Analysis. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 16, 2939-2944.
- Wang, Q., et al. 2023. Lead-induced cardiomyocytes apoptosis by inhibiting gap junction intercellular communication via modulating the PKC α /Cx43 signaling pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 376, 110451.
- Wang, R., et al. 2019. The Cardiotoxicity Induced by Arsenic Trioxide is Alleviated by Salvianolic Acid A via Maintaining Calcium Homeostasis and Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress. *Molecules*, 24(3), 543.
- Witkowska, D., Słowik, J. and Chilicka, K. 2021. Heavy Metals and Human Health: Possible Exposure Pathways and the Competition for Protein Binding Sites. *Molecules*, 26(19).
- Zahedi, A., et al. 2021. Effect of ambient air PM(2.5)-bound heavy metals on blood metal(loid)s and children's asthma and allergy pro-inflammatory (IgE, IL-4 and IL-13) biomarkers. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 68, 126826.
- Zhang, N., et al. 2019. Metal nickel exposure increase the risk of congenital heart defects occurrence in offspring: A case-control study in China. *Medicine*, 98(18).
- Zhao, J., et al. 2021. The association of arsenic exposure with hypertension and blood pressure: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Environmental Pollution*, 289, 117914.
- Zhao, X. Y., et al. 2008. Resveratrol protects against arsenic trioxide-induced cardiotoxicity in vitro and in vivo. *British Journal of Pharmacology*, 154(1), 105-113.
- Zhao, Z., et al. 2020. Ameliorative effects and mechanism of crocetin in arsenic trioxide-induced cardiotoxicity in rats. *Molecular Medicine Reports*, 22(6), 5271-5281.

Publikovani radovi iz teze:

1. **Cirovic A**, Orisakwe OE, **Cirovic A**, Jevtic J, Tasic D, Tasic N. Non-Uniform Bioaccumulation of Lead and Arsenic in Two Remote Regions of the Human Heart's Left Ventricle: A Post-Mortem Study. *Biomolecules*. 2023; 10;13(8):1232. doi: 10.3390/biom13081232. **M21 IF 6.064**
2. **Ćirović A**, Buha Đorđević A, **Ćirović A**, Jevtić J, Tasić D, Janković S, Antonijević B, Petrović Z, Orisakwe OE, Tasić N. Trace Element Concentrations in Autopsied Heart Tissues from Patients with Secondary Cardiomyopathy. *Biol Trace Elem Res*. 2023; 25. doi: 10.1007/s12011-023-03857-z. **M22 IF 4.081**
3. **Cirovic A**, Tasic N. Accumulation of metal(oids) in myocardial tissue and the mechanisms underlying their cardiotoxic effects. *Medicinski podmladak* 2023; DOI 10.5937/mp74-46164. **M52**.

Кратка биографија аутора

Др Ана Ћировић је рођена 12. маја 1988. године у Београду где је завршила Основну школу и „Трећу београдску гимназију“. Медицински факултет Универзитета у Београду уписала је школске 2007/8, а дипломирала је 2013. године са просечном оценом 9,11.

Докторске студије уписала је на Медицинском факултету Универзитета у Београду школске 2015/16. У звање сарадника у настави на катедри за ужу област Анатомија изабрана је 15. 1. 2016. а реизабрана 31. 12. 2017. Од 2018. ради на Институту за анатомију као асистент. Награђена је од стране Студентског парламента 2022. године за лично залагање у извођењу наставе. Такође, др Ана Ћировић је специјализант завршне године педијатрије. Аутор је и коаутор у више радова публикованих у часописима индексираним у Journal Citation Reports (JCR) листи.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Ана Ћировић

Број индекса: BS 03/15

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Испитивање односа степена стенозе предње нисходне гране леве коронарне артерије са концентрацијама метала и металоида у ткиву миокарда леве коморе (енгл. Examination of the relationship between the degree of stenosis of the anterior descending branch of the left coronary artery and the concentrations of metals and metalloids in the myocardial tissue of the left ventricle)

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 11.12.2023.

A. Ćirović

образац изјаве о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Ана Ћировић

Број индекса: BS 03/15

Студијски програм: Докторске академске студије, Модул: Запаљење и аутоимуност

Наслов рада: Испитивање односа степена стенозе предње нисходне гране леве коронарне артерије са концентрацијама метала и металоида у ткиву миокарда леве коморе (енгл. Examination of the relationship between the degree of stenosis of the anterior descending branch of the left coronary artery and the concentrations of metals and metalloids in the myocardial tissue of the left ventricle)

Ментор: проф. др Небојша Тасић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 11.12.2023.

A. Tirović

образац изјаве о
коришћењу

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Испитивање односа степена стенозе предње нисходне гране леве коронарне артерије са концентрацијама метала и металоида у ткиву миокарда леве коморе

(енгл. Examination of the relationship between the degree of stenosis of the anterior descending branch of the left coronary artery and the concentrations of metals and metalloids in the myocardial tissue of the left ventricle)

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 11.12.2023.

