

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 23.11.2023. godine, broj 14/XVIII-3/3-A<sup>T</sup>, imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

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

kandidata dr Ane Čirović, zaposlene na Institutu za anatomiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Mentor je prof. dr Nebojša Tasić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Siniša Stojković, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Laslo Puškaš, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Vladimir Jakovljević, profesor Medicinskog fakulteta u Kragujevcu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, Komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

**IZVEŠTAJ**

**A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije**

Doktorska disertacija dr Ane Čirović napisana je na ukupno 37 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno četiri tabele i devet slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o Komisiji.

U **uvodu** je na adekvatan način, savremenom literaturom predstavljeno na koje je sve načine čovek u svakodnevom životu izložen različitim metalima i metaloidima, i kako su oni povezani sa nastankom pojedinih kardioloških oboljenja. U daljem toku uvoda pominju se mehanizmi koji doprinose deponovanju teških metala u tkivu miokarda. Takođe, u uvodu se mogu naći i epidemiološki podaci vezani za pojedina srčana oboljenja (srčanu slabost, kardiomiopatije i ishemijsku bolest srca) i bubrežna oboljenja (hronična bubrežna slabost).

**Ciljevi rada** su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja uniformnosti deponovanja metala u tkivu miokarda, što predstavlja prvi cilj ove teze. Sledeći cilj je bilo ispitivanje uticaja stenozne prednje nishodne grane leve koronarne arterije na nakupljanje metala u tkivu miokarda leve komore, kao i korelacija koncentracije teških metala sa parametrima sistemskog zapaljenja (C-reaktivni protein i ukupan broj leukocita). Konačno, cilj ove teze je bio i ispitati da li pojedina kardiološka oboljenja (srčana slabost, kardiomiopatije i ishemijska bolest srca), kao i bubrežna oboljenja (hronična bubrežna slabost) utiču na pojačano taloženje različitih metala u tkivu miokarda leve komore.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji preseka koja je sprovedena na Institutu za anatomiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Detaljno je opisan način prikupljanja uzoraka, kako vezanih tako i pojedinačnih. Takođe su opisani i kriterijumi za uključenje u studiju, kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Za potrebe ove teze prikupljeno je 90 uzoraka miokarda leve komore od 62 osobe (35 muškaraca i 27 žena) na Institutu za anatomiju i Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, kojima je kasnije izvršeno merenje induktivno spregnutom plazma masenom spektrometrijom. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključjenja u studiju.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 100 referenci.

## **B) Provera originalnosti doktorske disertacije**

Provera originalnosti doktorske disertacije (Similarity index) pod nazivom „Ispitivanje odnosa stepena stenozne prednje nishodne grane leve koronarne arterije sa koncentracijama metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore” dr Ane Ćirović, korišćenjem programa iThenticate, iznosi 10%. Jedan deo podudarnosti, 2%, odnosi se na objavljene radove koji su proistekli iz same teze, pre svega na isti redosled izlaganja p-vrednosti. Objavljeni radovi predstavljaju uslov za odbranu teze.

Ostalih 8% podudarnosti odnosi se pre svega na preklapanje sa drugim tezama zbog korišćenja sličnih fraza koje su obavezne, kao na primer „Univerzitet u Beogradu“, ili često korišćenih fraza u zahvalnici, kao i u sekciji materijali i metode kao što su nazivi instituta. U ovih 8% podudarnosti potpadaju i preklapanja sa drugim radovima u smislu citiranja istih referenci i naziva pojedinih studija. Ovaj stepen podudarnosti, nastao iz već pomenutih razloga, u skladu je sa članom 9 Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

### **C) Kratak opis postignutih rezultata**

Rezultati prvog dela disertacije ukazuju da se pojedini metali i metaloidi ne nakupljaju uniformno u tkivu miokarda leve komore, a za potrebe ovog istraživanja prikupljeno je 20 uzoraka miokarda leve komore na Institutu za anatomiju od 10 osoba. Pokazano je da su koncentracije arsena i olova značajno veće u miokardu apeksa leve komore u poređenju sa bazom leve komore. Takođe, pokazano je da postoji pozitivna korelacija između prosečne koncentracije arsena u tkivu miokarda leve komore i debljine međukomorske pregrade.

Za drugi i treći deo disertacije korišćeni su uzorci dobijeni sa Instituta za patologiju (70 uzoraka leve komore od 52 osobe). Rezultati drugog dela teze ukazuju da postojanje stenozе prednje nishodne grane leve koronarne arterije nije uticalo na pojačano nakupljanje metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore distalno od stenozе. Takođe, pokazano je da postoji statistički značajna inverzna korelacija između koncentracija kadmijuma distalno od stenozе i koncentracije C-reaktivnog proteina (CRP-a), dok je korelacija između koncentracije nikla distalno od stenozе i CRP-a takođe bila statistički značajna.

U trećem delu ovog rada ispitivano je da li postoji neka veza između izmerenih koncentracija metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore i postojanja različitih kardioloških oboljenja, kao i između koncentracija metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore i postojanja hronične bubrežne slabosti. Pokazano je da osobe koje imaju dijagnostikovanu neku sekundarnu kardiomiopatiju imaju značajno manje koncentracije cinka i veće koncentracije olova, nikla, mangana i bakra u poređenju sa osobama bez sekundarnih kardiomiopatija. Sličan profil metala i metaloida pokazan je i kada je u pitanju srčana insuficijencija; naime, osobe sa srčanom insuficijencijom su imale veće koncentracije bakra, nikla, magnezijuma i olova, kao i značajno niže vrednosti cinka u poređenju sa kontrolama

(osobe bez srčane insuficijencije). Što se tiče ishemijske bolesti srca, nije bilo nikakvih razlika u koncentraciji izmerenih metala i metaloida između osoba sa i bez ishemijske bolesti srca.

Jedino nekardiološko oboljenje koje je analizirano u ovoj tezi je hronična bubrežna slabost. Što se tiče hronične bubrežne slabosti, pokazano je da osobe koje imaju hroničnu bubrežnu slabost imaju manje koncentracije gvožđa u tkivu miokarda leve komore u poređenju sa kontrolama.

#### **D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Do danas, nijedan objavljen rad se nije bavio ispitivanjem uniformnosti taloženja metala i metaloida unutar različitih regiona leve komore kod ljudi. Becker i saradnici su sproveli zanimljivu studiju gde su praktično izvršili mapiranje koncentracije metala u srčanom mišiću koristeći *in vivo* model i njihovi rezultati ukazuju da se distribucija cinka, bakra, gvožđa i mangana unutar miokarda komora veoma razlikuje, ali bez preciznije analize (Becker et al. 2010).

Frustaci i saradnici su sproveli 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). U ovoj tezi, antimon nije bio predmet istraživanja, te stoga ne možemo da izvršimo poređenje sa radom koji su objavili Frustaci i saradnici. S druge strane, koncentracije žive su bile predmet istraživanja ove disertacije nije bilo razlika u koncentraciji žive kod osoba sa kardiomiopatijama i bez kardiomiopatije. Međutim, treba naglasiti da je postojao jasan trend u smislu povećanih vrednosti žive u tkivu miokarda leve komore kod osoba sa srčanom insuficijencijom. Nedostatak statističke značajnosti kad su u pitanju osobe sa kardiomiopatijom može se objasniti drugim ispitivanim mestom, kao i drugom metodologijom merenja.

Rahil-Khazen i saradnici su analizirali koncentracije različitih elemenata iz autopsijskih materijala dobijenih sa 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 metala i metaloida iz tkiva miokarda. Od 25 uzoraka miokarda, 12 je pripadalo osobama bez kardioloških tegoba, 6 uzoraka je pripadalo pacijentima sa hipertrofijom miokarda, dok je

ostalnih 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.

O ulozi adekvatnog nivoa cinka i normalnog rada srca govori i prikaz slučaja koji su objavili Rosenblum i saradnici. Oni su prikazali slučaj 24-godišnje žene sa anoreksijom, nervozom i novonastalom srčanom insuficijencijom, čija se redukovana sistolna funkcija leve komore poboljšala nakon suplementacije cinkom. Izmerena koncentracija cinka na prijemu je bila 23  $\mu\text{g/dL}$ , dok je normalan opseg 70–120  $\mu\text{g/dL}$  (Rosenblum et al. 2020). Naravno, u ovom prikazu slučaja cink je meren iz periferne krvi a ne direktno iz srčanog mišića, ali nedvosmisleno ukazuje na značaj održavanja adekvatnog nivoa cinka, kako u krvi tako i u tkivu miokarda. Frustaci i saradnici su sprovedli čitav set analiza uzoraka leve komore (histopatološka analiza, merenje koncentracije različitih metala i metaloida, određivanje nivoa glutacion 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 značajno smanjenje koncentracije selena i cinka u tkivu miokarda i serumu kod pacijenata sa kardiomiopatijom i intestinalnom malapsorpcijom u poređenju sa ispitanicima kod kojih je dijagnostikovana idiopatska dilatativna kardiomiopatija i kontrolama (Frustaci et al. 2012).

Konačno, smanjenje koncentracije gvožđa koje su autori teze pronašli u tkivu miokarda leve komore kod osoba sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom može se objasniti time da osobe koje imaju hroničnu bubrežnu insuficijenciju imaju neretko povišene vrednosti katehoamina i aldosterona u krvi, a svi pomenuti hormoni smanjuju ekspresiju transferinskog receptora na površini kardiomiocita i na taj način doprinose smanjenju koncentracije gvožđa unutar srčanog mišića (Maeder et al. 2011).

## **E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

**1. Ćirović A, Orisakwe OE, Ćirović A, Jevtić J, Tasić D, Tasić 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 Aug 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 Sep 25. doi: 10.1007/s12011-023-03857-z. **M22 IF 4.081**

**3. Ćirović A, Tasić N.** Accumulation of metal(oids) in myocardial tissue and the mechanisms underlying their cardiotoxic effects. *Medicinski podmladak* 2023; DOI 10.5937/mp74-46164. **M52**

#### **F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Ova teza je doprinela boljem razumevanju dinamike deponovanja metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore kod osoba sa i bez kardioloških oboljenja. Dinamika nakupljanja metala koja je ispitivana na uzorcima od nekardioloških pacijenata može da posluži kao preporuka za sva buduća istraživanja da, ako budu bazirana na merenju koncentracije metala i metaloida tokom prikupljanja uzorka, uzorak bude uziman sa istog mesta. Time se može izbeći da mesto uzorkovanja utiče na interpretaciju rezultata. Takođe, dovodenje u direktnu vezu postojanje određenih kardioloških oboljenja (srčana insuficijencija, kardiomiopatije i ishemijske bolesti srca) i povišene koncentracije metala i metaloida u tkivu miokarda leve komore može da bude značajno za bolje razumevanje nastanka i progresije pomenutih oboljenja, kao i za dalji razvoj preventivnih programa, koji mogu da utiču na smanjenje ekspozicije metalima i metaloidima tokom svakodnevnih aktivnosti. Štaviše, ova teza je pokazala i da smanjenje rada drugih organa, što se viđa kod hronične bubrežne insuficijencije, može da utiče na smanjenje koncentracije gvožđa, koje je bitno za normalno funkcionisanje kardiomiocita, unutar miokarda leve komore. Sve navedeno može biti iskorišćeno za izradu kako finansijskih tako i strateških projekcija.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila adekvatna i savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, Komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Ane Ćirović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 05.12.2023.

Članovi Komisije:

Prof. dr Siniša Stojković

---

Prof. dr Laslo Puškaš

---

Prof. dr Vladimir Jakovljević

---

Mentor:

Prof. dr Nebojša Tasić

---