



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



**Зорислава Бајић**

**ЕФЕКТИ ЛИРАГЛУТИДА НА ФУНКЦИОНАЛНЕ  
И БИОХЕМИЈСКЕ ПРОМЈЕНЕ СРЦА У  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ МОДЕЛУ ОШТЕЋЕЊА  
МИОКАРДА ИЗАЗВАНОГ ИЗОПРЕНАЛИНОМ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Бања Лука, 2023. године



UNIVERSITY OF BANJA LUKA  
FACULTY OF MEDICINE



**Zorislava Bajić**

**THE EFFECTS OF LIRAGLUTIDE ON  
FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN  
THE EXPERIMENTAL MODEL OF MYOCARDIAL  
INJURY INDUCED BY ISOPRENALINE**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2023.

**Ментор:** Проф. др Драган М. Ђурић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Београду.

**Коментор:** Проф. др Милош П. Стојиљковић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци.

**Наслов докторске дисертације:** Ефекти лираглутида на функционалне и биохемијске промјене срца у експерименталном моделу оштећења миокарда изазваног изопреналином

**Резиме:** Акутни инфаркт миокарда (АИМ) се дефинише као некроза кардиомиоцита која настаје као последица исхемије која доводи до неравнотеже између допремања крви коронарним крвним судовима и потреба миокарда. Акутни инфаркт миокарда је повезан са инфламаторним одговором и промјеном екстрацелуларног матрикса због ослобађања слободних радикала и протеолитичких ензима, који воде ка ремоделовању миокарда. На експерименталном моделу код пацова, изопреналин изазива промјене сличне промјенама код инфаркта миокарда. Студија је дизајнирана у два дијела, у једном дијелу су испитивани ефекти лираглутида на акутно оштећење миокарда а у другом ефекти лираглутида на попуштање срца. Експеримент акутног оштећења миокарда је трајао 10 дана, а експеримент попуштања срца 9 дана. У сваком од ових експеримената, пацови су подијељени у по 4 групе. Експеримент акутног оштећења миокарда је обухватио: 1) контролну групу која је примала само физиолошки раствор, 2) изопреналинску, која је примала физиолошки раствор током 10 дана, а изопреналин 9. и 10. дана, 3) лираглутидску, која је примала лираглутид током 10 дана, а 9. и 10. дана физиолошки раствор, и 4) комбинацију лираглутида и изопреналина, лираглутид се давао током 10 дана, а изопреналин 9. и 10. дана. Експеримент попуштања срца је обухватио, такође, 4 групе: 1) контролну, која је током 9 дана примала физиолошки раствор, 2) изопреналинску, која је примала изопреналин 1. и 2. дана а потом физиолошки раствор наредних 7 дана, 3) лираглутидску групу, која је примала физиолошки раствор прва два дана, а лираглутид наредних 7 дана, 4) комбинацију изопреналин и лираглутид, која је 1. и 2. дана примала изопреналин, а наредних 7 дана лираглутид.

Примјена лираглутида код акутног оштећења миокарда значајно снижава концентрацију укупног холестерола, LDL, хомоцистеина и TBARS, а повећава каталазу и редуковани глутатион. Примјена лираглутида код попуштања срца значајно повећава дијаметар интервентрикуларног септума у систоли и дијастоли, и ејекциону

фракцију, а смањује енд-сistolни волумен и концентрацију укупног холестерола и TBARS.

**Кључне ријечи:** изопренилином индуковано оштећење миокарда, лираглутид, оксидативни стрес,

**Научна област:** Медицинске и здравствене науке

**Научно поље:** Медицинске науке

**Ужа научна област:** Физиологија

**Класификациона ознака за научну област према CERIF шифрарнику:** B 470

**Тип одабране лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за начин коришћења садржаја докторске дисертације:** Ауторство - некомерцијално - дијелити под истим условима.

**Mentor:** Dragan M. Djuric, MD, PhD, Full Professor, Faculty of Medicine, University of Belgrade

**Comentor:** Miloš P. Stojiljković, MD, PhD, Full Professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka

**Doctoral thesis:** The effects of liraglutide on functional and biochemical changes in the experimental model of myocardial injury induced by isoprenaline

**Summary:** Acute myocardial injury (AMI) is defined as necrosis of cardiomyocytes that occurs as a result of ischaemia caused by an imbalance between blood supply by coronary blood vessels and myocardium demands for oxygen. AMI is associated with an inflammatory response and changes in the extracellular matrix due to the release of free radicals and proteolytic enzymes, which lead to myocardial remodeling. In the rat experimental model, isoprenaline causes changes similar to those in myocardial injury. The study was designed as AMI and the failing heart. The AMI experiment lasted 10 days, and the experiment with failing heart lasted 9 days. In each of these experiments, the rats were divided into 4 groups. The experiment with acute myocardial injury included 1) control group, which received only saline, 2) isoprenaline group, which received saline for 10 days, and isoprenaline on days 9 and 10, 3) liraglutide group - liraglutide for 10 days, and saline on days 9 and 10, and 4) liraglutide and isoprenaline group - liraglutide was administered for 10 days, and isoprenaline on days 9 and 10. The experiment with failing heart also included 4 groups: 1) control group, which received saline during 9 days, 2) isoprenaline group, which received isoprenaline on days 1 and 2 and then saline for the next 7 days, 3) liraglutide group, which received saline the first two days, and liraglutide for the following 7 days, 4) isoprenaline and liraglutide group, which received isoprenaline on days 1 and 2, and liraglutide on the following 7 days. In AMI liraglutide significantly decreases levels of total cholesterol, LDL, homocysteine and TBARS, and increases catalase and reduced glutathation. In failing heart liraglutide significantly increases interventricular septum diameter in systole and diastole and ejection fraction, it reduces end-sistolic volume, levels of total cholesterol and TBARS.

**Keywords:** isoprenaline-induced myocardial injury, liraglutide, oxidative stress,

**Scientific area:** Medical and health sciences

**Scientific field:** Medical Sciences

**Narrow scientific area:** Physiology

**Classification code of the scientific area by CERIF codebook:** B 470

**Type of the selected licence of the Creative Commons how to use the content of the doctoral dissertation:** Attribution - Non Commercial – Share Alike

## САДРЖАЈ

1	УВОД .....	1
1.1	Акутни инфаркт миокарда .....	1
1.2	Попуштање срца .....	2
1.2.1	Акутни компензаторни механизми након инфаркта миокарда .....	2
1.2.2	Хронични компензаторни механизми након инфаркта миокарда .....	4
1.3	Такоцубо синдром .....	10
1.4	Оксидативни стрес у оштећеном миокарду .....	11
1.4.1	Механизам оксидативног стреса код оштећења миокарда .....	12
1.4.2	Антиоксидативна заштита код оштећења миокарда .....	13
1.4.3	Посљедице оксидативног стреса у миокарду .....	14
1.5	Инфламација код оштећења миокарда .....	16
1.5.1	Регионални инфламаторни одговор .....	16
1.5.2	Системски инфламаторни одговор .....	18
1.6	Ремоделовање срца након оштећења миокарда .....	21
1.7	Експериментални модел оштећења миокарда изазван изопренилином .....	22
1.8	Агонисти рецептора глугагону-сличног пептида 1 .....	26
1.8.1	Кардиоваскуларни ефекти GLP-1 RAs .....	29
1.8.2	Лираглутид .....	32
2	РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ .....	33
3	ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА .....	34
4	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....	35
4.1	Експерименталне животиње .....	35

4.2	Експериментални модел оштећења миокарда.....	35
4.3	Групе експерименталних животиња – примјена лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда .....	35
4.4	Групе експерименталних животиња – примјена лираглутида у превенцији попуштања срца.....	37
4.5	Електрокардиографија (ЕКГ) код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда и попуштања срца .....	38
4.6	Ехокардиографија (ЕХО) код примјене лираглутида у превенцији попуштања срца.....	39
4.7	Узимање узорака крви и њихова анализа.....	40
4.8	Узимање узорка ткива, патохистолошка и имунохистохемијска анализа ..	42
4.9	Статистичка анализа.....	43
5	РЕЗУЛТАТИ.....	44
5.1	Резултати примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином.....	44
5.1.1	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином на масу срца, тјелесну масу и индекс срчане масе 44	
5.1.2	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином на ЕКГ .....	45
5.1.3	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином на биохемијске параметре и серумске маркере оштећења миокарда .....	46
5.1.4	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда на маркере оксидативног стреса.....	49
5.1.5	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда на патохистолошке карактеристике .....	53
5.1.6	Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца на маркере апоптозе .....	55
5.2	Резултати примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопреналином.....	63



5.2.1	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопрениалином на масу срца, тјелесну масу и индекс срчане масе .....	63
5.2.2	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на ЕКГ параметре .....	64
5.2.3	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на ЕХО параметре .....	65
5.2.4	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на биохемијске параметре и серумске маркере оштећења миокарда.....	72
5.2.5	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на маркере оксидативног стреса .....	76
5.2.6	Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопрениалином на патохистолошке карактеристике миокарда .....	81
6	ДИСКУСИЈА .....	83
7	ЗАКЉУЧЦИ.....	96
8	ЛИТЕРАТУРА.....	97
	ЛИСТА СКРАЋЕНИЦА.....	117

# 1 УВОД

## 1.1 Акутни инфаркт миокарда

У високо развијеним земљама кардиоваскуларне болести (КВБ) су најважнији узрок смрти већ деценијама. Средње развијене и ниско развијене земље посљедњих десет година показују тенденцију све већег броја обољелих од коронарне болести срца. Кардиоваскуларне болести, нарочито исхемијска болест срца и мозга, представљају водећи узрок смрти и главни узрок неспособности. Резултати студије *Global Burden of Disease Study* показују да се у периоду од 1990. до 2019. године преваленција свих КВБ скоро удвостручила (од 271 милиона до 523 милиона) и да се број смрти од ових болести повећао (од 12.1 милиона на 18.6 милиона). Број година онеспособљености (*disability-adjusted life years - DALYs*) због исхемијске болести срца достигао је 182 милиона DALYs, а укупан број смрти због кардиоваскуларних болести у 2019. години износио је 9.14 милиона (1). Процјењује се да ће до 2030. године КВБ бити узрок више од 23 милиона смрти (2). Оптерећење здравственог система кардиоваскуларним болестима расте у скоро свим земљама (1). Напори да се побољша лијечење акутног инфаркта миокарда, који представља један од водећих узрока смрти, су резултирали усавршавањем медикаментне терапије, примјеном перкутаних коронарних интервентних процедура и стратегија за примарну и секундарну превенцију које су довеле до смањења број умрлих од ових обољења. Акутни инфаркт миокарда (АИМ) се дефинише као некроза кардиомиоцита која настаје као посљедица исхемије која доводи до неравнотеже између допремања крви коронарним крвним судовима и потреба миокарда. Акутни инфаркт миокарда је повезан са инфламаторним одговором и промјеном екстрацелуларног матрикса због ослобађања слободних радикала и протеолитичких ензима, који воде ка ремоделовању миокарда (3). Инфламаторни процес у оквиру оштећења миокарда може да утиче на величину лезије (4,5).

## 1.2 Попуштање срца

Као компликација оштећења миокарда може се јавити инсуфицијенција срца. *American Heart Association* и *American College of Cardiology* дефинишу срчану инсуфицијенцију као комплексан клинички синдром који може настати као последица функционалног срчаног поремећаја који ремети способност коморе да прима или избацује крв (6). Кардиоваскуларне промјене које настају у срчаној инсуфицијенцији изазваној инфарктом миокарда могу се подијелити у два периода:

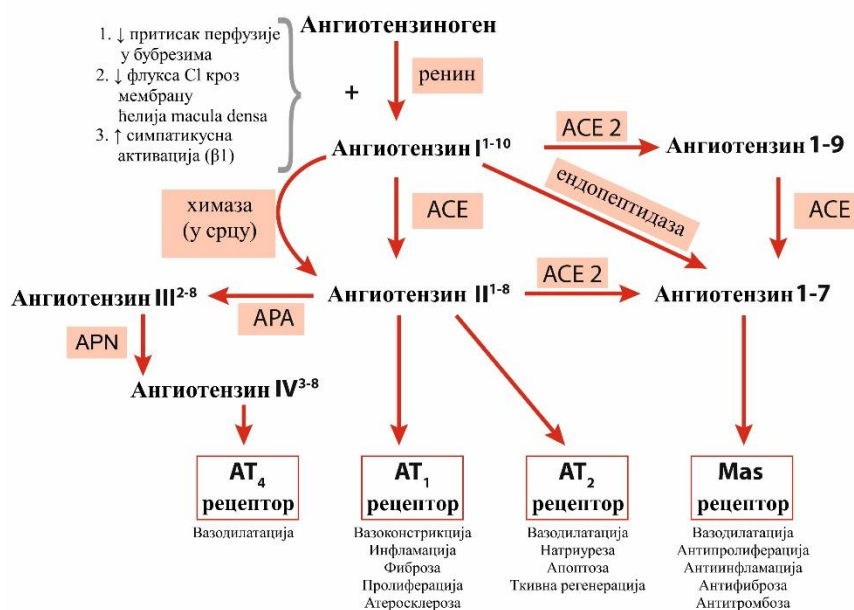
- Акутну, компензаторну фазу
- Хроничну, неприлагођену фазу, која се јавља након акутне, а у којој компензаторни механизми прогресивно доприносе погоршању болести (7).

### 1.2.1 Акутни компензаторни механизми након инфаркта миокарда

Да би се успоставила хемодинамска хомеостаза, у овој фази два главна механизма која се покрећу су: Франк-Старлингов механизам и хиперактивација неурохуморалних система.

Франк-Старлингов механизам се јавља као одговор на смањење минутног волумена срца. Он мијења контрактилност срца према степену растезања ткива и запремини лијеве коморе на крају дијастоле (*left venticle end-diastolic volume – LVEDV*). Срце реагује већом контрактилном снагом кад је миокард више истегнут, а мањом снагом када је миокард мање истегнут. Када дође до акутне срчане инсуфицијенције, смањена ејекциона фракција лијеве коморе смањује минутни волумен и повећава LVEDV. Као последица тога повећава се контрактилна снага при сљедећој систоли и поново успоставља одговарајући минутни волумен. Овај механизам није одржив на дужи временски период, тако да се морају укључити и други механизми, као што су симпатички нервни систем (*sympathetic nervous system - SNS*) и ренин-ангиотензин-алдостерон систем (*renin-angiotensin-aldosterone system - RAAS*). SNS се активира када дође до пада системског крвног притска и стимулације барорецептора.

На тај начин SNS омогућава поновно успостављање минутног волумена и крвног притиска повећањем срчане контрактилности и периферног отпора. Повећање контрактиле снаге последица је накупљања јона калцијума у цитосолу кардиомиоцита након континуиране високофреквентне деполаризације. До повећања периферног отпора долази због артеријске и венске констрикције. RAAS се такође активира при сниженом минутном волумену и вишем системском крвном притиску. Одговор је спорији од SNS јер је потребно вријеме да се синтетишу супстанце које учествују у овом систему. Главни ефекат овог система је антидиуретски, јер подстиче задржавање јона натријума и воде, чиме се повећава волемија и враћа крвни притисак на нормалне вриједности (7). Ренин цијепа ангиотензиноген у ангиотензин I који садржи 10 аминокиселина. Ангиотензин-конвертујући ензим (*angiotenzin-converting enzyme - ACE*), који је дипептидаза, даље цијепа ангиотензин I (декапептид) у ангиотензин II (октапептид). Ангиотензин II има двојако дејство; директно, активацијом ангиотензинских рецептора AT<sub>1</sub> и AT<sub>2</sub>, те индиректно, стимулацијом стварања алдостерона. Посредством ензима ACE2, који је монопептидаза, ангиотензин I може да се цијепа до ангиотензина 1-9, а ангиотензин II до ангиотензина 1-7. Ангиотензин II прелази у ангиотензин III дјеловањем ензима аминопептидазе A (*aminopeptidase A – APA*), а он може прећи у ангиотензин IV дјеловањем аминопептидазе N (*aminopeptidase N – APN*; Слика 1) (8). Алтернативни пут настанка ангиотензина II од ангиотензина I у срцу одвија се уз помоћ химаза (9). Ангиотензин II преко AT<sub>1</sub> дјелује вазоконстрикторно, па узрокује редистрибуцију крви и повећава контрактилност срчаног мишића. Активност RAAS-а може мијењати SNS, тако да можемо рећи да ова два механизма дјелују заједно (7). Насупрот ангиотензину II који је снажан вазоконстриктор, те стимулише инфламацију, фиброзу и пролиферацију, ангиотензин 1-7 дјелује вазодилататорно, антиинфламаторно, антипролиферативно и антифиброзно (Слика 1).



Слика 1. Механизми активације и каскадни пут синтезе ангиотензинских молекула те њихови ефекти посредовани различитим рецепторима

ACE - ангиотензин-конвертујући ензим, APN - аминопептидаза N, APA - аминопептидаза A, AT – ангиотензин рецептор

## 1.2.2 Хронични компензаторни механизми након инфаркта миокарда

Неурохуморални механизми настоје да одрже срчану функцију и избјегну настанак срчане инсуфицијенције, али кроз дужи временски период они постају недовољни. У хроничне адаптационе механизме спадају хиперактивност SNS, хиперактивност RAAS, оксидативни стрес, инфламаторни процеси који завршавају са накупљањем фиброзног ткива, ремоделовање срца и дилатативна хипертрофија, те промјена протеинског профила и динамике срчане контракције, ремоделовање енергетског супстрата (7,10–15).

### 1.2.2.1 Продужена хиперактивност SNS-а

Хиперактивност SNS узрокује губитак реакције на норадреналински стимулус. Продужена хиперактивност SNS узрокује десензитацију  $\beta_1$  адренергичких рецептора, као и смањење њихове густине у срчаном ткиву (7). Због овакве симпатичке стимулације смањује се однос  $\beta_1:\beta_2$  рецептора, као и снага срчане контракције. Овај круг постаје „зачаран“ јер симпатичка стимулација постаје још снажнија, а тиме долази до десензитизације још већег броја рецептора (16). Континуирана стимулација  $\beta$  рецептора активира сигналне путеве који су одговорни за експресију протеина у преосталим срчаним ћелијама (17). Ови протеини су одговорни за механизме ексцитације и контракције. На овај начин хиперсензитивност SNS-а смањује срчану контракцију и минутни волумен срца. Она такође подстиче раст срчаних ћелија стимулацијом митоген-активираним протеин киназама (*mitogen-activated protein kinases – MAPK*) и калцинеурин-нуклеарни фактор активираних Т ћелија (*calcineurin-nuclear factor of activated T cells – calcineurin-NFAT*). Ови сигнални путеви доводе до ремоделовања срца и настанка дилатативне хипертрофије срца (7).

### 1.2.2.2 Продужена хиперактивност RAAS

Хиперактивност RAAS посредством ангиотензина II и алдостерона узрокује ефекте сличне активацији  $\beta$  адренергичких рецептора (18). Након инфаркта миокарда долази и до локалног лучења ангиотензина II у срцу независно од лучења ренина (18,19). Ангиотензин II има локалне ефекте на ћелије срчаног мишића, чиме утиче на контрактилност и ремоделовање срца и доприноси хипертрофији срца (7). Осим тога, он подстиче производњу реактивних кисеоничних врста (*reactive oxygen species – ROS*), инфламаторних цитокина и колагена, што даље води ка ремоделовању срца. Сличан ефекат има и алдостерон (20–22).

### 1.2.2.3 Активација натриуретских пептида

Атријалне натриуретске пептиде (*atrial natriuretic peptide – ANP*) углавном синтетишу и секретују атријални (преткоморски) миоцити, а у ову велику групу пептида спадају мождани натриуретски пеприд (*brain natriuretic peptide – BNP*) и Ц-тип натриуретског пептида (*C-type natriuretic peptide – CNP*).

BNP углавном синтетишу миоцити лијеве коморе у одговору на претјерани притисак или истезање коморе због волумена. Структура BNP је углавном слична код различитих врста, а разлика која се може наћи је у дужини и композицији аминокиселина „N“-терминалног и „C“-терминалног наставка. Под патолошким условима синтетише се прекурсор BNP-а који садржи 134 аминокиселине, а означен је као *pre-proBNP*. Од њега се одваја 26 аминокиселина на N-терминалном дијелу, при чему настаје *proBNP* од 108 аминокиселина. *ProBNP* конвертазе, корин и фурин, цијепају *proBNP* у неактивну форму од 76 аминокиселина, *NT-proBNP*, и активну форму од 32 аминокиселине, BNP (23). *NT-proBNP* и BNP се стварају у односу 1:1 (24). Иако се лучше у истом односу, било би очекивано да им је концентracија иста, али је доказано да је концентracија *NT-proBNP* виша у односу на BNP, а то се објашњава њиховом разликом у полуживоту. *NT-proBNP* има полуживот од 120 минута, за разлику од BNP, чији је полуживот само 20 минута (25). Постоје три врсте мембранских рецептора за натриуретске пептиде (*natriuretic peptide receptors – NPR*), *NPR-A*, *NPR-B*, *NPR-C*. *NPR-A* представља рецептор за BNP. Када се BNP веже за *NPR-A*, долази до повећања нивоа цикличног гванилат монофосфата (*cyclic guanylate monophosphate – cGMP*) (23). *cGMP*, као секундарни гласник, настаје од гванозин трифосфата (*guanosine triphosphate – GTP*) помоћу ензима гуанилил циклаза (*guanylyl cyclases – GCs*). Код сисара се *GCs* налазе у два облика, солубилна (*soluble guanylyl cyclase – sGC*) и партикулатна (*particulate guanylyl cyclase – pGC*). Обе *GC* су укључене у сигналне путеве у којим учествује *cGMP*. Азотни оксид (NO) стимулише *sGC*, а натриуретски пептиди стимулишу *pGC* (26). Постоји најмање 7 врста *pGCs*, *GC-A* до *GC-G*. ANP и BNP су природни лиганди за *GC-A*, а CNP је лиганд за *GC-B*. *pGCs* се налазе на ћелијској мембрани. *sGC* се састоји од двије подјединице, велике  $\alpha$  и мале  $\beta$  подјединице, а најчешћа изоформа је  $sGC\alpha_1\beta_1$ . *sGC* се налази на мембранским доменима богатим кавеолином заједно са NO синтазом (NOS). Таква колокализација са кавеолином, Hsp90 и ендотелном NOS пронађена је на ендотелним ћелијама аорте (26). *cGMP* дјелује преко *cGMP*-зависних протеин киназа (*cGMP-dependent protein kinases – PKGs или cGKs*). Постоје три изоформе *PKG*, *PKG* тип I $\alpha$  (*PKG I $\alpha$* ), *PKG* тип I $\beta$  (*PKG I $\beta$* ) и *PKG* тип II (*PKG II*) (26). У кардиоваскуларном систему, главна изоформа је *PKG I*, тако да се *PKG I $\alpha$*  налази у кардиомиоцитима, а *PKG I $\beta$*  у ендотелним ћелијама.

Канали зависни од цикличних нуклеотида (*cyclic nucleotide-gated – CNG channels*), неселективни катјонски канали, могу бити активирани са cGMP-ом (26). Фосфодиестеразе (*phosphodiesterases – PDEs*) су ензими који разграђују и тиме регулишу дужину трајања cAMP и cGMP као других гласника у ћелији. Познато је да постоји 11 типова PDE од којих PDE2 и PDE9 контролишу сигнални пут pCG/cGMP, а PDE5 и PDE3 преобладају регулишу sCG/cGMP. PKG I стимулирана са NO/sCG регулише активност PDE5 (26).

Сигнални пут BNP/cGMP/PKG доводи до покретања биолошких активности против RAAS и симпатичког нервног система, доводећи до побољшања гломеруларне филтрације и фракционе филтрације, чиме остварује своје диуретске, натриуретске и вазодилаторне ефекте. NPR-C се сматра рецептором који је укључен у процес деградације и елиминације натриуретских пептида из екстрацелуларног простора. У физиолошким условима, поред ових рецептора, у деградацију BNP укључене су неутрална ендопептидаза (*neutral endopeptidase – NEP*), позната и као неприлизин, те дипептидил пептидаза (*dipeptidyl peptidase IV – DPPIV*), и ензим за деградацију инсулина (*insulin degrading enzyme – IDE*) (23). Године 2015. од стране Америчке администрације за храну и лијекове (*US Food and Drug Administration, FDA*) одобрена је нова класа лијекова која садржи у једнаком односу блокатор ангиотензинских рецептора, валсартан, и инхибитор неприлицина који врши деградацију BNP-а, сакубитрил (23).

#### 1.2.2.4 Репарација миокарда након оштећења

Репарација срчаног ткива након инфаркта миокарда се одвија у неколико фаза. У првој фази долази до активације урођеног имунитета и миграције лимфоцита и чишћења мртвих ћелија са подручја инфаркта. У другој фази се смањује инфламаторни одговор, повећава синтеза фактора раста, те врши активацију мезенхимских ћелија и њихова диференцијација у миофибробласте који луче протеине екстрацелуларног матрикса и поправљају оштећено ткиво. На тај начин се настоји очувати структурни интегритет срца након инфаркта миокарда. Детаљно ћемо изнијети механизме који се дешавају у овим фазама.



У првој фази, када је дошло до некрозе срчаног ткива, јавља се хемотаксија, при чему ендотелне ћелије граничних зона коронарне васкулатуре и исхемијом-узроковано стварање ROS подстичу лучење хемотаксијских фактора (7,27,28). Ти фактори су различити цитокини и хемокини, те адхезионе молекуле. Најважнији међу њима су фактор некрозе тумора- $\alpha$  (*tumor necrosis factor- $\alpha$  - TNF- $\alpha$* ), интерлеукин- $1\beta$  (*interleukin- $1\beta$ ; IL- $1\beta$* ), интерлеукин-6 (*interleukin-6; IL-6*), који подстичу синтезу адхезина ендотелних ћелија и активирају леукоцитне интегрине, при чему настају снажне адхезивне везе које даље индукују екстравазацију инфламаторних ћелија у захваћено подручје (29–32). Инфилтрацију имунских ћелија у инфарктно подручје олакшава појачана протеолитичка активност матриксних металопротеиназа (27). Након инфламаторне фазе, почиње фаза репарације са настанком фиброзе. Сматра се да у овом процесу главну улогу имају моноцити, макрофаги и лимфоцити који утичу на лучење фактора раста и интерлеукина-10 (IL-10) који подстичу диференцијацију фибробласта и стварање колагена (7). У синтези колагена учествују и реактивне кисеоничне и азотне врсте путем активације нуклеарног фактора капа Б (*nuclear factor kappa B - NK-kB*) (27). Ензими који учествују у синтези колагена након инфаркта миокарда су никотинамид аденин динуклеотид фосфат (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate – NADPH*) оксидазом, индуцибилна NO-синтаза (*inducible nitric oxide synthase - iNOS*) (33–36). Тако долази до одлагања фиброзног ткива. То је начин да се поправи срчано ткиво, али то, такође, мијења и контрактилност јер је у тим дијеловима срца смањена еластичност и ти дијелови су крути (7). Тако измијењен миокард повећава растезање зида лијеве срчане коморе, а он, заједно са повећаним притиском и волуменом води ка дилататорној хипертрофији срца, што се манифестује истањивањем зида лијеве коморе због одлагања саркомера у серијама и повећања лијеве коморе (7,37). Овакво стање може да води у срчану инсуфицијенцију (7).

#### 1.2.2.5 Модификација протеина и контрактилне динамике срца

Након инфаркта миокарда долази до смањене експресије и активности калцијум АТФ-азе 2а саркоплазматског/ендоплазматског ретикулума (*sarcoplasmic/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ ATPase 2a – SERCA2a*) (38). Овај ензим је одговоран за преузимање  $Ca^{2+}$  у саркоплазматски ретикулум и релаксацију срца, тако да његова снижена активност продужава период релаксације, повећава енд-

дијастолни притисак и смањује пуњење лијеве коморе (јавља се дијастолна дисфункција). Ови процеси погоршавају симптоме срчане инсуфицијенције (39). На контрактилност срца додатно утиче и фиброза која доводи до реорганизације ћелијских структура које су неопходе за контракцију, дијада (Т-тубули плазма мембране и цистерна саркоплазматског ретикулума). Унутар дијада смањује се активност протеин киназе А (*protein kinase type A – PKA*) и долази до хиперфосфорилације многих протеина. У овај механизам укључене су и активности протеин киназе Ц (*protein kinase type C - PKC*) и инозитол трифосфат (*inositol triphosphate - IP<sub>3</sub>*). Са хиперфосфорилацијом протеина смањује се контрактилна снага и смањује се количина интрацелуларног  $Ca^{2+}$  (40–43).

#### 1.2.2.6 *Енергетски супстрат ремоделовања*

Нормално срце као извор енергије за синтезу аденозин трифосфата (*adenosine triphosphate - ATP*) користи оксидацију масних киселина (прије него глукозу или друге изворе, као што су лактати). Након инфаркта миокарда, код већине анималних модела, али и пацијената са срчаном инсуфицијенцијом насталом на подлози исхемијске болести срца, повећава се коришћење глукозе и лактата са смањењем липидне оксидације. Као резултат ових промјена долази до смањене производње АТФ-а и накупљања ROS. Сматра се да све то смањује контрактилност срца и доприноси настанку срчане инсуфицијенције (7). Срчана слабост може се јавити у лијевом или десном дијелу срца (6). Инсуфицијенција лијевог срца представља комплексно стање које обухвата дисфункцију коморске пумпе, што код човјека може узроковати различите симптоме (диспнеа, умор, отежана физичка активност). Поред тога, могу се јавити знаци оптерећења волуменом, као што плућни пукоти, периферни едеми и други (6).

Инсуфицијенција десног срца настаје због дисфункције компоненти десног срчаног циркулаторног система, од системских вена (пост-системски капилари) до плућне артерије (пре-пулмонални капилари). Инсуфицијенција десног срца може развити и секундарно од инсуфицијенције лијевог срца (44).

### 1.3 Такоцубо синдром

Такоцубо синдром (*Takotsubo syndrome – TTS*), познат и као синдром сломљеног срца, представља стресом-индуковану кардиомиопатију која се јавља након екстремног физичког и/или емоционалног стреса. Стопа морталитета од TTS у болничким условима је слична стопи морталитета акутног коронарног синдрома. Већина пацијената са TTS су жене старије од 60 година, али он код мушкараца има лошију прогнозу. Симптоми и знаци овог синдрома су слични онима код акутног инфаркта миокарда: бол у грудима, диспнеа, ST елевација и инверзија Т таласа на електрокардиограму, повишена концентрација тропонина, и промјене у покретљивости зида лијеве коморе које доводе до пролазне и реверзибилне систолне дисфункције лијеве коморе са апикалним балонирањем (45,46). Оно што га разликује од акутног коронарног синдрома је изостанак коронарне оклузије и што промјена у контракцијама лијеве коморе није везана за регион васкуларизације коронарне артерије. Терапија TTS је супортивна, јер бета блокатори, који се дају у случају акутног инфаркта миокарда, нису ефикасни код пацијената са TTS (45). Значај проучавања TTS се огледа и у томе што овај синдром може узроковати озбиљне компликације, као што су поремећаји срчаног ритма и опструкција излазног тракта лијеве коморе (*left ventricular outflow tract obstruction – LVOTO*) са озбиљним посљедицама. LVOTO је компликација која се јавља у акутној фази и након фазе опоравка од TTS, јер повећање притиска у лијевој комори доводи до хемодинамске нестабилности, митралне регургитације, па чак и кардиогеног шока. TTS карактеришу хиперконтрактилност базалног и средњег сегмента и дискинезија апикалног сегмента зида коморе (46).

Сматра се да је у основи овог синдрома хиперактивност симпатичког нервног система, јер су концентрације адреналина и норадреналина значајно повишене у акутној фази TTS у односу на акутни инфаркт миокарда. Стања код којих су повишене концентрације катехоламина, као што је феохромоцитом, тиреотоксикоза и субарахноидална хеморагија са симпатичком „олујом“, могу такође узроковати овај синдром. Било је и случајева у којима је примјена  $\beta$ -агониста подстакла развој TTS.

Експерименталне студије су показале да примјена високих доза адреналина или изопреналина у анималним моделима изазива акутну реверзибилну дисфункцију лијеве коморе сличну TTS-у (45).

Истраживања су показала да је код TTS-а повећана концентрација слободних радикала, инфламаторних цитокина, смањена активност ендотелне NO синтазе и продукција NO, те појачана апоптотска активност (46). Патогенеза TTS-а највјероватније укључује комбинацију више фактора, што је чини веома комплексном за проучавање. Сложена патогенеза, која није детаљно испитана и недостатак оптималних терапијских опција показују потребу за кориштењем експерименталних модела за проучавање овог синдрома (46). Један од често кориштених модела је изопреналински модел TTS-а (45).

#### 1.4 Оксидативни стрес у оштећеном миокарду

Оксидативни стрес се дефинише као неравнотежа између оксиданаса и антиоксиданаса, у корист оксиданаса што доводи до поремећаја редокс сигналног пута и/или оштећења на молекуларном нивоу (47). Оксидансе који подстичу оксидативни стрес називамо прооксидансима, а дијелимо их на реактивне кисеоничне врсте - ROS и реактивне азотне врсте (*reactive nitrogen species* - RNS). У ROS спадају супероксид анион радикал ( $O_2^-$ ), хидроксил радикал ( $OH\bullet$ ), водоник пероксид ( $H_2O_2$ ) и синглет кисеоник ( $^1O_2$ ) (48). У RNS спадају азот моноксид (NO) и пероксинитрит ( $ONOO^-$ ) (49). ROS настају ензимским и неензимским реакцијама. Ензимске реакције којима се производи ROS обухватају учешће респираторног ланца, синтезу простагландина, фагоцитозу и систем цитохрома P450. Једном када се формира  $O_2^-$ , он учествује у настанку других радикала, као што су хидроксил радикал и пероксинитрит, као и нерадикалских облика као што је водоник пероксид (48).

Када се налазе у малој концентрацији, ROS имају значајну улогу у хомеостазу ћелије, али у вишку могу узроковати поремећај ћелијске функције, па чак и смрт ћелије. Накупљање ROS у срцу може узроковати развој и прогресију ремоделовања миокарда и настанак срчане инсуфицијенције (50).

### 1.4.1 Механизам оксидативног стреса код оштећења миокарда

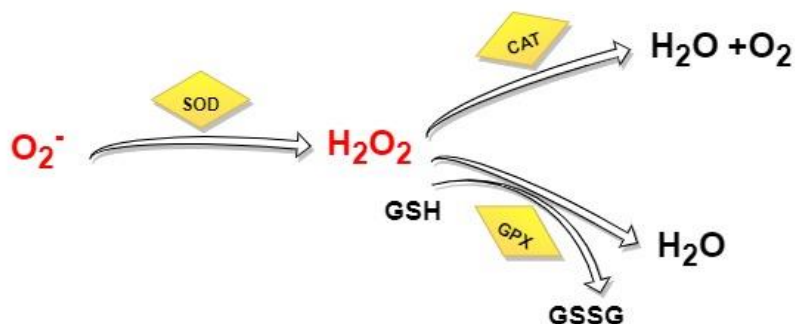
Оксидативни стрес утиче на развој и прогресију клиничког и експерименталног оштећења миокарда и срчане инсуфицијенције. Производња ROS у срцу првенствено се постиже дјеловањем NADPH оксидазом, ксантин оксидазом и азот-моксид синтазом (NOS). У патолошким условима, митохондријски транспортни ланац електрона стимулише производњу великих количина  $O_2^-$ . Након инфаркта миокарда, повећање  $O_2^-$  доприноси оштећењу кардиомиоцита и дисфункцији миокарда. Производња ROS је такође повећана због повећане експресије и активности NADPH оксидазе (NOX), која се јавља услед неколико патолошких стимулуса, укључујући механичко истезање, дјеловање ендотелина-1, ангиотензина II и TNF- $\alpha$ . NOX има неколико изоформи, али је у срцу изражена експресија NOX2 и NOX4 (51). NOX4 је локализован у митохондријама кардиомиоцита и посредник је оксидативног стреса преко нуклеарног еритроидног фактора 2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2 - Nfr2*) (51–53). У оштећеном срцу повећавају се експресија и активност ксантин оксидазе, што доводи до повећане производње ROS. На крају, због оштећења миокарда, NOS постаје „невезана“ (*uncoupled*) и структурно нестабилна, што узрокује повећану производњу ROS. Код мишева, повећана производња ROS-а доводи до контрактилне дисфункције, дилатације лијеве коморе и ремоделовања. Поред драстичног повећања оксидативног стреса, срчану инсуфицијенцију (*heart failure - HF*) карактерише исцрпљивање антиоксидативног одбрамбеног механизма. У кардиомиоцитима, као и у већини ћелија, главне ендogene компоненте антиоксидативног одбрамбеног механизма одговорне за инактивацију ROS су супероксид дисмутаза (*superoxide dismutase - SOD*), каталаза (*catalase - CAT*), глутатион пероксидаза (*glutathione peroxidase - GPx*), никотинамид и редуковани глутатион (*reduced glutathione - GSH*) (54–56). Неколико студија је показало значајно смањење активности SOD, каталазе и GPx на животињским моделима оштећења миокарда и срчане инсуфицијенције (54–56). Мишеви којима је недостајала SOD или GPx имали су лошији исход након оштећења миокарда у поређењу са њиховом контролом (57–61). Никотинамид аденин динуклеотид у оксидованом ( $NAD^+$ ) и редукованом облику (NADH) је кључан за покретање оксидационо-редукционих реакција укључених у производњу енергије (50).

Поред своје улоге у регулисању ћелијског енергетског метаболизма,  $\text{NAD}^+$  представља и прекурсор фосфорилисаног нуклеотидног пара  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$  који игра главну улогу у уклањању ROS. Смањење нивоа  $\text{NAD}^+$  у миокарду забиљежено је у неколико животињских модела оштећења миокарда и срчане инсуфицијенције. Студије показују да је никотинамид мононуклеотид аденилил трансфераза (*nicotinamide mononucleotide adenylyl transferase - Nmnat*), ензим који је одговоран за производњу  $\text{NAD}^+$ , значајно смањен код срчане инсуфицијенције у животињским моделима оштећења миокарда, али и код пацијената с инфарктом миокарда (62). GSH, као и  $\text{NAD}^+$ , један је од главних антиоксиданаса у ћелијама сисара који уклања радикале и елиминише производе липидне пероксидације. Смањење укупног глутатиона нађено је код животиња након оштећења миокарда (63,64). Смањење GSH корелира са нивоима  $\text{TNF-}\alpha$  у серуму (64). У ткиву лијеве коморе пацијената у посљедњој фази дилатације или исхемијске кардиомиопатије, укупни глутатион је био 54% нижи у односу на контролну групу (63). Постоји висока корелација између нивоа GSH у серуму и тежине симптома код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом (65).

#### 1.4.2 Антиоксидативна заштита код оштећења миокарда

У миокарду, као и у другим ткивима, ROS активира антиоксидативну заштиту. Примарна антиоксидативна заштита може бити ензимска или неензимска. Ензимска антиоксидативна заштита укључује ензиме који имају директну интеракцију са ROS. То су SOD, CAT и друге пероксидазе. Ови ензими могу дјеловати истовремено са неензимском антиоксидативном заштитом. Нивое  $\text{O}_2^-$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  у миокарду регулишу митохондријална манган супероксид дисмутаза (MnSOD) и GPx (66). MnSOD (SOD2) представља 70% укупне SOD активности срца и 90% SOD активности кардиомиоцита (67,68). Екстрацелуларна Cu/Zn SOD (ECSOD, SOD3) учествује у веома малом проценту (69). Cu/ZnSOD има важнију улогу у другим органима (68).  $\text{H}_2\text{O}_2$ , који настаје у реакцији са SOD, под утицајем је каталазе и/или једног од GPx. CAT се налази првенствено у пероксизомима (pCAT) и митохондријама (mCAT). Она разлаже  $\text{H}_2\text{O}_2$  на воду и кисеоник (Слика 2).

$\text{H}_2\text{O}_2$  игра значајну улогу у животињским моделима срчане инсуфицијенције (68,70).  $\text{H}_2\text{O}_2$ , за разлику од  $\text{O}_2^-$ , има дужи вијек и може да прође кроз ћелијску мембрану. GPx је ензим који садржи селен, а чија је функција да катализује оксидацију редукованог глутатиона (GSH). У овој реакцији, GPx уклања  $\text{H}_2\text{O}_2$  (66).

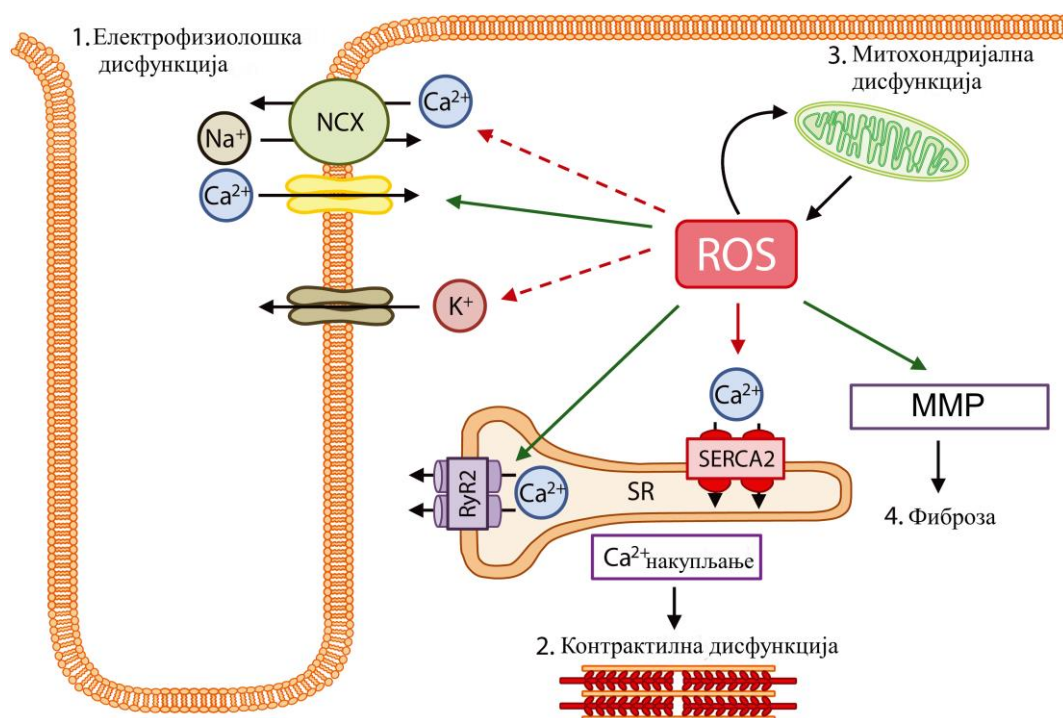


Слика 2. Улога SOD, CAT и GSH у антиоксидативној заштити  
SOD – супероксид дисмутаза, CAT - каталаза, GPX – глутатион пероксидаза

### 1.4.3 Посљедице оксидативног стреса у миокарду

Акумулација ROS код оштећења миокарда може покренути неколико механизма који изазивају електрофизиолошку, контрактилну и митохондријалну дисфункцију, те фиброзу са ремоделовањем срца. ROS утиче на функцију протеина неопходних за ексцитацију и контракцију кардиомиоцита, као што су: натријум-калцијум измењивач (*sodium-calcium exchanger* - NCX), натријумски канали, „L“-тип калцијумских канала и калијумови канали (Слика 3). Ове промјене укључују оштећену структуру или функцију која изазива обрнуту функцију NCX, изазивајући излазак (ефлукс) јона  $\text{Na}^+$  и улазак (инфлукс) јона  $\text{Ca}^{2+}$ . Прилив  $\text{Ca}^{2+}$  се такође повећава преко „L“-типа калцијумских канала, што доводи до преоптерећења калцијумом у цитоплазми (50). ROS повећава функцију АТФ-сензитивног калијумовог канала (*ATP-sensitive potassium channel* -  $K_{ATP}$ ) и скраћује трајање акционог потенцијала (71). Оксидативни стрес смањује активност калијумског волтажно-зависног канала (*potassium voltage-gated channel* -  $K_V$ ) и повећава активност касног натријумовог канала у кардиомиоцитима, што доводи до продуженог трајања акционог потенцијала.

Повећана функција рианодинског рецептора 2 (*ryanodine receptor 2 - RyR2*) код оштећења миокарда изазива излазак  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматског ретикулума (*sarcoplasmic reticulum - SR*) чиме се смањују залихе саркоплазматског  $\text{Ca}^{2+}$  (50,71,72). Измијењени *RyR2* може бити узрокован директним оксидативним ефектима или активацијом протеин киназе А и  $\text{Ca}^{2+}$ -калмодулин зависне протеин киназе II. Ови ензими су веома осетљиви на промјене редокс стања (72). ROS смањује активност  $\text{Ca}^{2+}$ -аденозин трифосфатазе 2 саркоплазматског ретикулума (*sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-adenosine triphosphatase 2 - SERCA2*) у оштећеном миокарду, што доводи до преоптерећења јонима  $\text{Ca}^{2+}$  и оштећења контрактилне функције. Митохондрије производе ROS код исхемијске повреде миокарда, али вишак ROS такође може изазвати оштећење митохондрија и поремећај енергетског промета. Вишак ROS утиче на експресију матриксне металопроотеиназе (*matrix metalloproteinase - MMP*) и изазива фиброзу и ремоделовање срца (50).



Слика 3. Посљедице оксидативног стреса у оштећеном миокарду (50).

ROS – реактивне кисеоничне врсте, MMP – матриксне металопроотеиназе, SERCA 2 -  $\text{Ca}^{2+}$ -аденозин трифосфатаза 2 саркоплазматског ретикулума, RyR2 - рианодински рецептор 2, NCX - натријум-калцијум измењивач



## 1.5 Инфламација код оштећења миокарда

### 1.5.1 Регионални инфламаторни одговор

Регионални одговор након оштећења миокарда може се подијелити у четири фазе (73,74):

- Фаза акутне смрти ћелије – јавља се одмах након инфаркта, а карактерише се појавом некрозе и апоптозе
- Фаза акутне инфламације – инфламаторни одговор који се јавља у првих седам дана, а чији је циљ ресорпција некротичног ткива
- Фаза субакутне гранулације – у прве три седмице долази до формирања гранулационог ткива, које се састоји од пролиферисаних миофибробласта, што повећава тензиону снагу срчаног мишића, те пролиферације крвних судова како би се побољшала перфузија и омогућио боље преживљавање ћелија
- Фаза хроничног ожиљка – јавља се након мјесец дана, а карактерише је формирање фибробласта и регресија малих крвних судова, те стварање коначног ожиљног ткива богатог колагеном (75).

У првој фази долази до некрозе и апоптозе, које се јављају као последица оксидативног стреса и активације проинфламаторних цитокина. Некроза је неконтролисана смрт ћелије. Оштећена ћелија бубри и не успијева да одржи хомеостазу са својом околином, те јој ћелијска мембрана пуца, а ћелијски садржај излази у околно ткиво што доводи до инфламације и до оштећења ткива. Поред некрозе у овој фази се јавља и апоптоза. Апоптоза је ћелијска смрт при којој се њен садржај не излијева у околину, а може се активирати унутрашњим и вањским путем. Унутрашњи пут подразумијева да оштећена ћелија активира сигналну каскаду за апоптозу након што сама детектује оштећење путем интрацелуларних сензора, као што су *PUMA*, *NOXA* и *BAX*. Вањски пут се активира када ћелије имунског система детектују специфичне рецепторе на површини оштећене ћелије, познате као „рецептори смрти“. Када се покрене неки од ова два пута, ћелијска аутодеструкција зависи од интрацелуларне активности каспаза, цистеин-аспарагинских протеаза, које су кључна обиљежја апоптотичке ћелијске смрти.

Каспаза-зависни сигнални пут води ка DNA фрагментацији ендонуклеазама, деградацији једарних протеина и цитоскелета, међусобног повезивања протеина, експресије лиганда фагоцитних ћелија и стварања апоптотичких тјелашаца. Апоптотичка тјелашца фагоцитују макрофаги, или околне ћелије прије њихове фрагментације. Ово је значајно јер се на тај начин ограничава оштећење и смањује ризик инфламације и колатералног оштећења околног ткива. Апоптоза се јавља око недјељу дана након оштећења миокарда, а свој максимум достиже 2 недјеље након оштећења (76). Овај пут иде преко *Bax/Bak*-зависне пермеабилizације спољашње мембране митохондрија (*mitochondrial outer membrane permeabilization - MOMP*) и ослобађања цитохрома C из митохондрија у цитоплазму. CytC са фактора 1 који активира апоптотичну протеазу (*apoptotic protease-activating factor 1; Apaf-1*) и доводи до активације каспазе 9 (77). Вањски пут се активира вањским стресним сигнаlima, као што су TNF- $\alpha$ , Fas лиганд (*Fas ligand - FasL*) и лиганд који индукује TNF-везану апоптозу (*TNF-related apoptosis inducing ligand - TRAIL*) који се везују за своје индивидуалне „рецепторе смрти“: TNF- $\alpha$  рецептор 1 (*TNF- $\alpha$  receptor 1 - TNFR1*), Fas и TRAIL рецептор 1 / 2 (*TRAIL receptor TRAILR 1 / 2*). Потом „рецептори смрти“ регрутују „домен смрти“ везан за Fas (*Fas associated death domain - FADD*) и прокаспазу, формирајући сигнални комплекс који индукује смрт ћелије (*death-inducing signaling complex - DISC*) који узрокује активацију каспазе 8. Активирани покретач каспазе 9 или 8 даље индукује активацију ефектора каспаза 3, 6 и 7, што доводи до цијепања ћелијских супстрата и ћелијске смрти (77,78). Недјељу дана након исхемије миокарда повећава се број *TUNEL* и каспаза 3 позитивних једара, која су специфична за апоптозу (76). Каспаза 3 представља значајан проапоптотски маркер јер учествује у терминалном дијелу апоптотског пута. Њена повећана експресија је повезана са повећаном инфарктном лезијом (57). *BCL-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2)* представља породицу протеина која обухвата различите протеине са *BCL-2* хомологим доменима (BH: BH1, BH2, BH3 и BH4) а који се дијеле у двије групе: проапоптотске и антиапоптотске (79).

У проапоптотске BCL-2 протеине спадају BCL-2-везани X протеин (*BCL-2-associated X protein; BAX*), BCL-2 антагонист (*BCL-2 antagonist/killer; BAK*), BCL-2 убица повезан са јајником, агонист смрти који реагује са ВНЗ доменом, агонист ћелијске смрти повезан са BCL-2, убица који реагује са BCL-2, медијатор ћелијске смрти који реагује са BCL-2, фактор модификације BCL-2, активатор апоптозе „харакири“, протеин 3 који реагује са BCL-2 (*BCL-2-interacting protein 3 – ANIP3*), NIX, форбол-12-миристат-13-ацетат-индуковани протеин 1 (*phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1 – NOXA*), p53 модулатор апоптозе (*p53 upregulated modulator of apoptosis – PUMA*). У антиапоптотске протеине спадају BCL-2, BCL-2 X-везани протеин (*BCL2 X-linked protein; BCL-XL*), мијелодина леукемија 1 и BCL-w и A1/BFL-1. Протеини BCL-2 породице имају интерације једни са другима, а од врсте те интеракције и њиховог односа зависи судбина ћелије. Тако на примјер, током инхибиције апоптозе однос BCL/BAX је повишен, што доприноси бољем преживљавању ћелија (79). Експерименталне студије су показале да повећана експресија BCL-2, инхибитора апоптозе, значајно смањује величину инфарктне зоне код исхемијско-реперфузијске повреде. Ова редукција је у корелацији са редукцијом апоптозе (78).

### 1.5.2 Системски инфламаторни одговор

Системски инфламаторни одговор чине:

- хуморални (цитокини и систем комплемента), и
- ћелијски посредован одговор.

Процес залијечења након инфаркта миокарда започињу TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1. У акутној постинфарктној фази лучење TNF- $\alpha$  стимулишу исхемија, оштећени миоцити и ROS. У раној постинфарктној фази одређени ниво производње цитокина сматра се физиолошким јер смањује ћелијску апоптозу. Систем комплемента подстиче стварање цитокина (нпр. IL-8), који заједно са активираним фактором тромбоцита (насталим у ендотелним ћелијама) стимулише ендоваскуларну адхезију неутрофила (80,81). Ти процеси повећавају васкуларну и инфламацију у ткиву.

Претјерани регионални инфламаторни одговор може имати штетан ефекат на инфарктну зону, може чак и повећати захваћену зону. У инфламаторном одговору посредованом ћелијама учествују неутрофили, моноцити/макрофаги и мастоцити. Неутрофили из крвног суда мигрирају у оштећену зону, и ту могу смањити локалну перфузију, те довести до повећања количине тромбокрана Б2, што даље може довести до вазоконстрикције и агрегације тромбоцита у том подручју. У оштећено срчано ткиво могу мигрирати и моноцити, који постају макрофаги, те луче различите цитокине и факторе раста (75). Деградацијом мастоцита отпуштају се фибробластни фактори раста, фактори раста ендотела, хистамин и други фактори који подстичу фиброзу и ангионеогенезу у миокарду, чиме учествују у формирању коначног ожиљног ткива (82,83).

#### 1.5.2.1 Механизми инфламаторног одговора код оштећења миокарда

Санација повреде миокарда састоји се од три процеса: инфламаторног процеса, репаративног процеса и формирања ожиљака (84). Оштећење миокарда изазива сложену инфламаторну реакцију. Дијелови некротичних ћелија, посебно кардиолипиди, могу да активирају компоненту 1q класичног пута комплемента те покрену каскаду осталих компоненти, што доводи до активације моноцита и секреције проинфламаторних цитокина, као што су интерлукин IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (85).

Некротични кардиомиоцити оштећеног миокарда испуштају молекуле означене као молекуларни обрасци повезани са оштећењем (*damage-associated molecular patterns - DAMPs*) који стимулишу урођени имунитет. DAMP молекуле препознаје толични рецептор (*toll-like receptor - TLR*) (85). TLR подстиче активацију хемокина и цитокина (84) и има позитивне ефекте на инфламацију код оштећења миокарда. Хемокини привлаче инфламаторне ћелије у подручје инфаркта (86). TLR изазива проинфламаторни одговор (87). Код оштећења миокарда изазваног изопренилином повећан је ниво TLR-4 (88). Повећан ниво проинфламаторних цитокина, као што су IL-1 $\beta$  и TNF, активира интегрине леукоцита, стимулише синтезу молекула ћелијске адхезије и изазива миграцију инфламаторних ћелија у оштећено подручје (87).

Хемокини су укључени у хемотаксу леукоцита, ангиогенезу миокарда, зарастање и формирање ожиљака (86). *СС хемокински лиганд 2 (СС chemokine ligand 2 - CCL2)* је моћно хемотактично средство за макрофаге, моноците, Т ћелије и НК ћелије. Рецептор за CCL2 је *СС хемокински рецептор 2 (СС chemokine receptor 2 - CCR2)* на макрофагима и моноцитима. Овај сигнални пут, CCL2-CCR2, укључен је у инфламаторни процес након оштећења миокарда (86). Други могући механизам инфламације код оштећења миокарда дјелује преко великог интрацелуларног протеинског комплекса названог нуклеотид-везујући домен олигомеризације налик домену 3 рецептора пирина (*nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor pyrin domain containing 3 - NLRP3*) инфламазом. NLRP3 је укључен у стерилну упалу и ремоделовање након инфаркта миокарда, а стимулише га DAMP. NLRP3 инфламазом садржи NLRP3-тачкасти апоптотски протеин који садржи домен за везивање каспазе (*apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain - ASC*) и прокаспазу-1. Када се инфламазом NLRP3 активира, он претвара прокаспазу-1 у каспазу-1 која индукује активацију IL-1 $\beta$  из његовог неактивног облика (pro IL -1 $\beta$ ) и сазријевање IL-18. Активирана каспаза-1 такође покреће гасдермин *D (gasdermin D - GSDMD)* и изазива пироптозу, ћелијску смрт изазвану инфламацијом. Ова промјена може довести до ремоделовања срца. Сматра се да и TLR може да активира IL-1 $\beta$  преко NF- $\kappa$ B. Активација инфламасома NLRP3 помоћу DAMP је посредована изласком јона K<sup>+</sup>, продукцијом ROS у митохондријама и ослобађањем катепсина из руптурираног лизозома (89).

Од инфламаторних маркера морају се споменути Ц-реактивни протеин (*C-reactive protein - CRP*) и IL-6, који се користе у свакодневној пракси. Количина CRP повећава се након акутног инфаркта миокарда због активације цитокина, те се везује за оштећене ћелије срчаног мишића. Он стимулише каскаду компоненти комплемента, што може довести до повећања величине инфарктне зоне. Осим тога он има проатерогене и протромботичке карактеристике, па се може користити као маркер код акутног инфаркта миокарда (75). Најзначајнији маркери инфламације код оштећења миокарда су IL-6 и TNF- $\alpha$ . Интерлеукин-6, као и CRP, представља значајан маркер инфламације који може указати на дијагнозу, стратификацију ризика и прогнозу пацијената са акутним инфарктом миокарда. Стварање IL-6 стимулишу интерферон гамма, IL-1 и TNF- $\alpha$  (90,91).

Он утиче на инфламаторни одговор и агрегацију тромбоцита, стимулише пролиферацију глатких мишићних ћелија крвних судова, те на тај начин дјелује као прокоагулант (92). Познато је да је експресија IL-6 повишена код индукованог оштећења миокарда (93). Фактор некрозе тумора-алфа, (TNF- $\alpha$ ) као кључни регулатор у инфламаторним реакцијама, дјелује не само као медијатор у комбинацији са својим лигандом, него има и независну улогу у инфламаторном одговору који учествује у поправљању оштећеног миокарда (94).

## 1.6 Ремоделовање срца након оштећења миокарда

Ремоделовање срца обухвата анатомске промјене (промјене облика и величине), функционалне и ћелијске промјене као што су експресија гена, ћелијске и интерстицијске промјене, као и реорганизација цитоскелета (95). Ови процеси могу бити физиолошки или патолошки и настати као резултат адаптације на измијењене услове ћелијског стреса. На примјер, почетни кардиоваскуларни одговор на велику надморску висину је тахикардија са константном ударним волуменом, али са благим повећањем крвног притиска да би се омогућило тијелу да се прилагоди нижем парцијалном притиску кисеоника (96). Слично томе, хипертрофија се сматра патолошким адаптивним одговором, посебно код инфаркта миокарда, кардиомиопатије, болести залистака и исхемијско-реперфузијских оштећења. У овим процесима значајна је улога ROS (97). Као посљедица исхемије, број кардиомиоцита се смањује, а преостали кардиомиоцити се издужују или хипертрофишу у компензаторном процесу како би се одржао ударни волумен након губитка контрактилног ткива. У том процесу повећава се и дебљина зида коморе. Поред кардиомиоцита, и друге ћелије срчаног ткива, као што су фибробласти и ендотелне ћелије, активирају се оштећењем миокарда, што доводи до повећане синтезе колагена и фиброзе, а то доприноси ремоделовању срца. Прогресија срчане инсуфицијенције је одређена тиме како се коморе супротстављају факторима који узрокују оштећену функцију.

ROS се сматра главним фактором у регулацији ремоделовања срца на неколико начина:

- могу дјеловати као сигнални молекули у развоју компензаторне хипертрофије (98)
- могу да активирају матриксне металопроотеиназе које реконфигуришу екстрацелуларни матрикс (99), и
- могу објаснити губитак кардиомиоцита апоптозом или другим механизмима ћелијске смрти (100).

Вентрикуларно ремоделовање код оштећења миокарда дијели се на двије фазе:

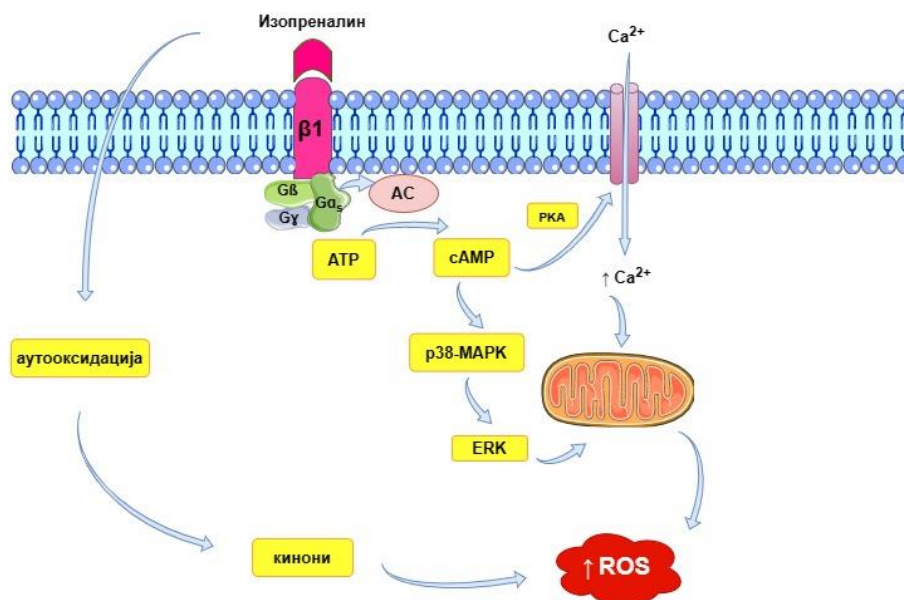
- рано, које се јавља у року од 72 сата, и
- касно, које се јавља након 72 сата од оштећења.

Ремоделовање лијеве коморе карактерише се реорганизацијом екстрацелуларног матрикса, промјеном геометрије, интерстицијалном инфламацијом, фиброзом, екстензивном вентрикуларном дилатацијом и оштећењем срчане функције, што доводи до срчане инсуфицијенције (100,101).

## **1.7 Експериментални модел оштећења миокарда изазван изопреналином**

У базичним истраживањима постоје многобројни анимални модели оштећења срца (миокарда), а један од најчешћих је субкутана администрација изопреналина. Изопреналин 4-[1-хидрокси-2(изопропиламино)етил]бензен-1,2-диол хидрохлорид (ISO) је синтетски катехоламин и  $\beta$ -адренергички агонист који узрокује интензиван стрес у миокарду и доводи до оштећења миокарда уколико се примјени у субмаксималним дозама (102). Изопреналин својим агонистичким дејством стимулише  $\beta$ -адренергичке рецепторе и на тај начин остварује утицај на контрактилност кардиомиоцита, енергетски метаболизам и учествује у ремоделовању срца (103–105). ISO стимулише  $\beta_1$ -адренергичке рецепторе који дјелују преко  $G_s$  протеина.  $G$  протеин је тример који се састоји од три субјединице:  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . Алфа субјединица има за себе везан гуанозин дифосфат (*guanosine diphosphate* - *GDP*).

Када се лиганд, у овом случају изопреналин, веже за рецептор, GDP се одваја од  $\alpha$  субјединице и на његово мјесто долази гуанозин трифосфат (*guanosine triphosphate* – *GTP*) који узрокује конформациону промјену ове субјединице при чему долази до њеног одвајања од  $\beta\gamma$  димера и њене активације. Потом се  $\alpha$  субјединица и  $\beta\gamma$  димер везују за ефекторну молекулу.  $\alpha$  субјединица је активна све док не дође до хидролизе везаног GTP-а у GDP, што узрокује повећање афинитета и спајања  $\alpha$  са  $\beta\gamma$  димером. Врста  $\alpha$  субјединице одређује да ли ће доћи до стимулације ( $\alpha_s$ ) или инхибиције ( $\alpha_i$ ) сигналног пута, те према томе имамо протеин Gs и Gi (106). Након што се изопреналин веже за рецептор, он активира протеин Gs, који даље активира аденилатну циклазу (*adenylate cyclase* – AC) и узрокује стварање цикличног аденозин монофосфата (*cyclic adenosine monophosphate* – cAMP). Створени cAMP даље активира cAMP зависну протеин киназу А (РКА) која онда фосфорилише L тип калцијумских канала и узрокује улазак  $\text{Ca}^{2+}$  у ћелију, те накупљање  $\text{Ca}^{2+}$  и стимулацију активности p38 митогеном активирани протеин киназе (*mitogen acitvated protein kinase* - MPAK). Повећана количина  $\text{Ca}^{2+}$  може узроковати ћелијску смрт активацијом  $\text{Ca}^{2+}$  - зависне АТФ-азе, поремећај митохондријалне фосфорилације и стварање ROS. ISO може изазвати оксидативни стрес и путем стварања адренохрома (кинона) својом аутооксидацијом (Слика 4) (107).



Слика 4. Механизам дјеловања изопреналина  
 $\beta_1$  -  $\beta_1$  рецептор, Gs – Gs протеин, AC – аденилат циклаза, АТФ – аденозин трифосфат, cAMP – циклични аденозин монофосфат, p38-MAPK - p38 митогеном активирани протеин киназа, ERK – протеин киназа регулисана екстрацелуларним сигналом, ROS – реактивне кисеоничне врсте



На моделу пацова, изопреналин изазива некрозу миокарда која доводи до дисфункције срца, повећане липидне пероксидације, повећане концентрације липида миокарда, измијењене ензимске и антиоксидативне активности (102). Механизам којим изопреналин изазива инфаркт миокарда обухвата производњу високо цитотоксичних слободних радикала путем аутооксидације катехоламина (102). Ови слободни радикали дјелују на полинезасићене масне киселине (*polyunsaturated fatty acids, PUFAs*) у мембранама, при чему долази до накупљања пероксидил радикала и ланчане реакције липидне пероксидације. Крајњи производи липидне пероксидације су штетни и изазивају повећану пропустљивост мембране, што доводи до развоја кардиомиопатије (108). Патофизиолошке и морфолошке промјене настале у срцу на моделу пацова са некрозом миокарда се могу упоредити са оним које се дешавају у инфаркту миокарда код људи, а понајвише са Такуцубо синдромом (102).

Уколико се изопреналином изазове оштећење миокарда, оно може, након неког времена, да изазове развој срчане инсуфицијенције. У Табели 2 наведени су и други модели срчане инсуфицијенције у односу на начин индукције и врсту срчане инсуфицијенције (лијева или десна) (109–112).

Табела 2. Индукција инсуфицијенције срца, анимални модели и врсте  
инсуфицијенције срца

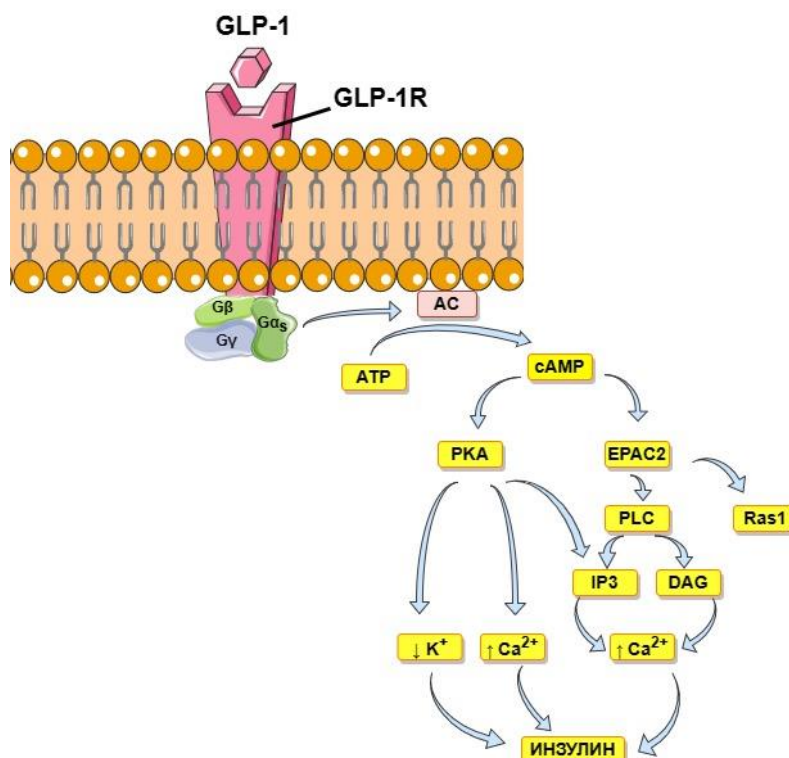
Индукција	Модели	Инсуфицијенција срца
<i>Исхемија</i>	Лигација коронарне артерије (±реперфузија)	Лијева
	Амероидна констрикција	
	Оклузија балоном (±реперфузија)	
	Емболизација	
	Стентови	
<i>Оптерећење притиском</i>	Подвезивање аорте (или стент)	
	Подвезивање реналне артерије (или стент)	
<i>Оптерећење волуменом</i>	Хируршка митрална регургитација	
	Пресијецање митралне хорде	
	Артерио-венска фистула	
<i>Хемијска индукција</i>	Доксорубицин	Десна
	Изопреналин	
	Монокроталин	
<i>Плућна хипертензија</i>	Констрикција пулмоналне артерије	

## 1.8 Агонисти рецептора глюкагону-сличног пептида 1

Дијабетес мелитус тип 2 (Т2ДМ) је обољење праћено многобројним компликацијама, међу којима су кардиоваскуларне болести доминантно одговорне за високе стопе морбидитета и морталитета (113). Узимајући у обзир велики ризик од кардиоваскуларних болести код особа са Т2ДМ, прави изазов био је да се произведе погодан антидијабетички лијек који је протективен за срце пацијената са дијабетесом. Из тог разлога, Америчка агенција за храну и лијекове (*US Food and Drug Administration - FDA*) и Европска агенција за лијекове (*European Medicines Agency - EMA*), уводе нове групе лијекова у третману Т2ДМ, а који истовремено показују и кардиопротективне карактеристике (114).

Агонисти *glukagon-like peptide-1* рецептора (*glukagon-like peptide-1 receptor agonists; GLP-IRAs*) су добили заслужно мјесто у антидијабетичној терапији, јер стимулишу лучење инсулина и смањују ниво гликолизираног хемоглобина без нежељених ефеката (повећање тјелесне тежине и хипогликемија) (114,115). Глукагону сличан пептид-1 (*glukagon-like peptide-1; GLP-1*) је природни инкретин хормон којег лучи танко цријево у одговору на унос хране. Он повећава лучење инсулина и инхибише ослобађање глюкагона (116,117). GLP-1 се у људском организму налази у два активна облика, GLP-1 (7-36 амид), којег има више, и GLP-1 (7-37 амид). Полуживот природног GLP-1 је веома кратак, и износи око 1 до 2 минута. Постоје два разлога за то: први је што дипептидил-пептидаза (*dipeptidyl-peptidase 4; DPP-4*) цијепа GLP-1 на GLP-1 (9-36) амид који има низак афинитет; други разлог је његов клиренс бубрезима. Рецептор глюкагону сличног пептида-1 (*glucagon like peptide-1 receptor; GLP-1R*) је члан *B* породице рецептора везаних за *G* протеине (Слика 5). У панкреасу интеракција GLP-1 и GLP-1R функционише преко сАМР и РКА сигналног пута. Прецизније, интеракција GLP-1 и GLP-1R активира аденилат циклазу, која подстиче конверзију АТР-а у сАМР, чиме се концентрација сАМР повећава. сАМР даље активира РКА и фактор 4 размјене *Rap* гуанин нуклеотида (*Rap guanine nucleotide exchange factor 4 - RAPGEF4 or EPAC2*). Активирана РКА може да затвори АТР-зависне  $K^+$  канале и деполарише ћелијску мембрану, а активира волтажно-зависне  $Ca^{2+}$ , узрокујући улазак јона  $Ca^{2+}$  и настанак акционог потенцијала.

РКА може да подстиче отпуштање  $\text{Ca}^{2+}$  активацијом  $\text{IP}_3$ . Активирани EPAC2 може даље активирати *Ras* протеин 1 и фосфолипазу C, која активира  $\text{IP}_3$  и диацилглицерол (*diacylglycerol* -DAG) и тиме подстиче отпуштање  $\text{Ca}^{2+}$ . Сви ови путеви на крају доводе до повећања концентрације  $\text{Ca}^{2+}$  у ћелији, и на тај начин подстичу митохондријалну синтезу АТФ-а и отпуштање инсулина у крви егзоцитозом (118).



Слика 5. Механизам дјеловања GLP-1.

GLP-1 - глугагону сличан пептид-1, GLP-1R – рецептор глугагону сличног пептида-1, G – протеин G, AC – аденил циклаза, АТФ – аденозин трифосфат, сАМФ - циклични аденозин монофосфат, РКА – протеин киназа А, EPAC2 - фактор 4 размјене *Rap* гуанин нуклеотида, PLC – фосфолипаза C, Ras1 – протеин Ras1, IP<sub>3</sub> – инозитол трифосфат, DAG - диацилглицерол

Агонисти за GLP-1 рецептор су синтетички агенси који подстичу лучење инсулина из бета ћелија а супримирају секрецију глугагона из алфа ћелија панкреаса. Поред тога, GLP-1RAs успоравају пражњење желуца и изазивају осјећај ситости на нивоу централног нервног система.

Они опонашају инкретин хормоне нашег организма, GLP-1, везујући се за одговарајуће рецепторе (119). У GLP-1RAs спадају: краткодјелујући ексенатид (*exenatide*), дугодјелујући ексенатид (*exenatide XR*), лираглутид (*liraglutide*), дулаглутид (*dulaglutide*), ликсисенатид (*lixisenatide*), семаглутид (*semaglutide*). У Табели 3 наведени су GLP-1RAs одобрени од стране US FDA.

Табела 3. GLP-1RAs одобрени од стране US FDA (119)

Генеричко име	Максимална доза	Учесталост давања	Година одобрења
Краткодјелујући ексенатид	10 µg	два пута дневно	2005
Дугодјелујући ексенатид	2 mg	једном седмично	2005
Лираглутид	1.8 mg	једном дневно	2010
Дулаглутид	1.5 mg	једном седмично	2014
Ликсисенатид	20 µg	једном дневно	2016
Семаглутид	1 mg	једном седмично	2017

Краткодјелујући GLP-1RAs, као што је краткодјелујући ексенатид и ликсисенатид дјелују на постпрандијалне вриједности глукозе због њиховог кратког полуживота. За разлику од њих, дугодјелујући GLP-1RAs могу да дјелују на вриједности глукозе наташте и због тога боље снижавају ниво гликолизираног хемоглобина HbA1c (119). Осим тога, GLP-1RAs показују бројне кардиоваскуларне протективне ефекте код особа са или без дијабетес мелитуса (114,115).

Експресија GLP-1 рецептора присутна је у бројним типовима кардиоваскуларних ћелија као што су моноцити/макрофаги, глатке мишићне ћелије, ендотелне ћелије и кардиомиоцити. Потенцијални кардиопротективни ефекат GLP-1RAs се заснива на вишеструком дјеловању: смањење инсулинске резистенције, губитак тјелесне масе, смањење артеријског крвног притиска, побољшање липидног профила, директан утицај на срце и васкуларни ендотел. Директан утицај на срце и ендотел огледа се у смањењењу оксидативног стреса, антиинфламаторним и антиатеросклеротским ефектима (114,115).

### 1.8.1 Кардиоваскуларни ефекти GLP-1 RAs

GLP-1RAs остварују кардиопротективно дјеловање кроз директне и индиректне ефекте на кардиоваскуларни систем. Индиректним ефектима се сматрају ефекти GLP-1RAs на факторе ризика кардиоваскуларних болести. Кардиоваскуларни фактори ризика су повишена концентрација глукозе, дислипидемија, гојазност и хипертензија (Слика 5).

GLP-1RAs представљају антихипергликемијске агенсе који унапријеђују здравље и преживљавање  $\beta$  ћелија (побољшање постпрандијалне хипергликемије), супримирају глукагон (побољшање хипергликемије наташте), побољшавају отпорност инсулина (умјерен ефекат), дјелују на унос енергије (појачавају заштитне синагле) (120).

Дислипидемија је честа код особа са Т2ДМ. Триглицериди и холестерол се физиолошки апсорбују у танком цријеву и транспортују у јетру аполипопротеинима (*apolipoprotein – apo*) В-48 у облику хиломикрона. Одатле се триглицериди и холестерол транспортују као липопротеини веома мале густине (*very low density lipoprotein - VLDL*), који се постепено трансформишу у липопротеине мале густине (*low density lipoprotein - LDL*) хидролизом њихових триглицерида. Повећан ниво LDL и високи постпрандијални ниво триглицерида представљају значајан кардиоваскуларни ризик. Истраживања су показала да GLP-1RAs могу снизити концентрацију LDL и триглицерида (121).

Експерименталне и клиничке студије показују да GLP-1RAs утичу на редукцију тјелесне масе код гојазних пацијената без дијабетеса. Они контролишу енергетски унос, смањују жељу за храном, и контролишу гојазност преко различитих сигналних путева. Они активирају Wnt сигнални пут којим промовишу диференцијацију адипоцита, док ген SIRT1 посредује у липолизи и оксидацији масних киселина у масном ткиву (118).

Краткорочна примјена GLP-1RAs може да повећа крвни притисак, док дугорочна примјена може да га спусти. Могући механизми укључени у ове промјене још увијек нису до краја испитани.

Постоје спекулације да би у основи тог пада притиска могла бити редуција тјелесне масе, натриуреза, снижена активност RAAS, повишен ниво ANP и побољшана ендотелна функција, узроковани дуготрајном примјеном GLP-1RAs (121).

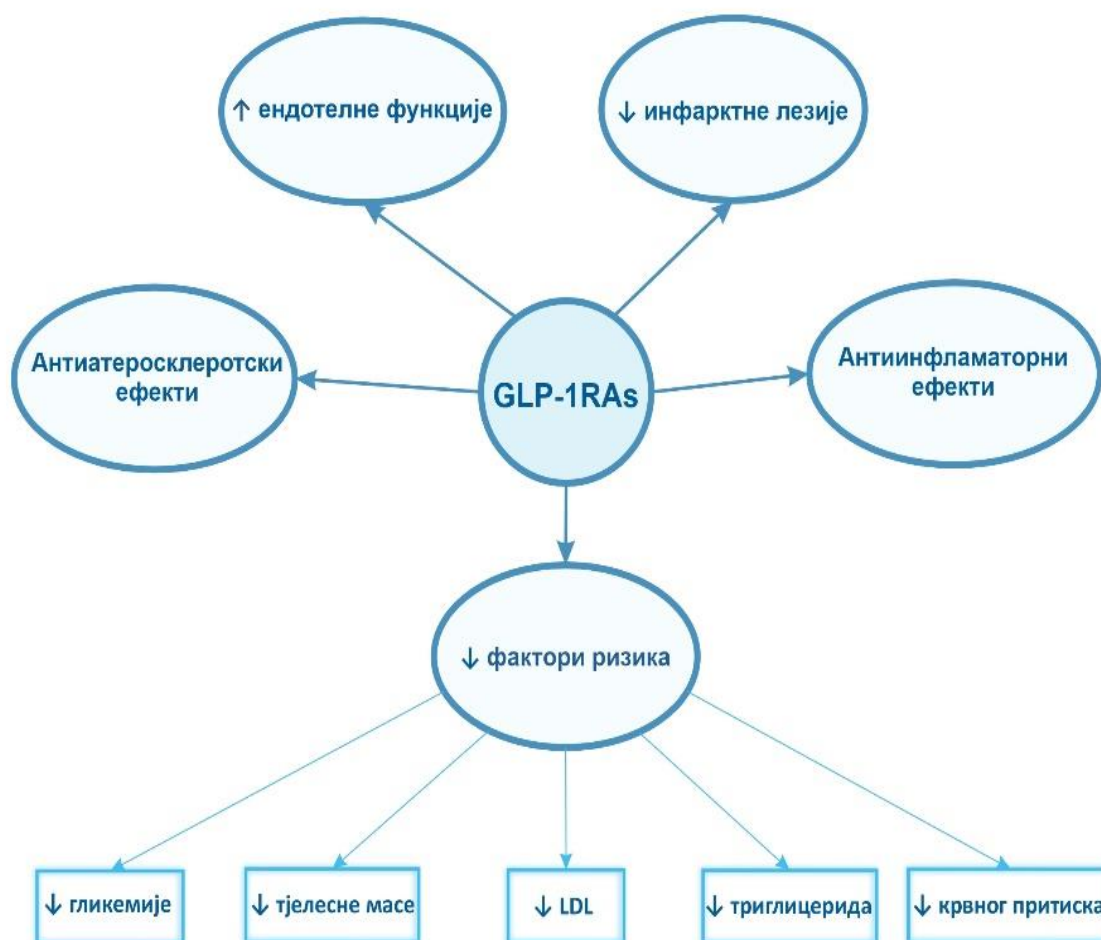
Студије на малом броју испитаника показале су да инфузија GLP-1 повећава фреквенцију срца код здравих, гојазних и особа са T2DM. GLP-1RAs опонаша ове ефекте, али се ефекти разликују зависно од врсте GLP-1RAs, и износе од 2-10 откуцаја/минути. Није познат тачан механизам који узрокује повећање срчане фреквенције, али се смтра да би то могла бити системска вазодилатација са посљедичном рефлексном тахикардијом. Друга хипотеза је да GLP-1RAs утичне на аутономни нервни систем, повећавајући активност SNS. Трећа хипотеза иде у прилог директних ефеката GLP-1RAs на сино-атријални чвор. Ниједна од ових хипотеза није у потпуности потврђена експерименталним и клиничким студијама (121).

Код гојазних и особа са T2DM често се нађе системска инфламација ниског интензитета. Сматра се да је то због ектопичне акумулације масти, која узрокује инфламаторни одговор. Хипергликемија и дислипидемија даље појачавају овај процес, а онда инфламација погоршава метаболичке и кардиоваскуларне болести. GLP-1RAs редукују маркере инфламације, као што су TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, CRP, леукоцитне адхезионе молекуле као што су васкуларна ћелијска адхезиона молекула 1 (*vascular cell adhesion molecule 1; VCAM-1*) и интерћелијска адхезиона молекула 1 (*intercellular adhesion molecule 1; ICAM-1*). Код пацијената са T2DM, GLP-1RAs могу повећати број ендотелних прогениторних ћелија што резултује аниоксидативним и антиинфламаторним ефектима (121).

GLP-1RAs остварују своје антиатеросклеротске ефекте смањењем активности матриксне металопроотеиназе 2 и инхибицијом пролиферације васкуларних глатких мишићних ћелија. Код инфаркта миокарда GLP-1RAs смањују инфарктну лезију, смањењем накупљања Ca<sup>2+</sup> и инхибицијом глукозом-индуковане апоптозе. Осим тога, они побољшавају функцију ендотела NO-индукованом вазодилатацијом и смањењем оксидативног стреса (114).

Главним механизмом GLP-1RAs кардиопротекције сматра се механизам против оксидативног стреса, уклањањем ROS, повећањем ендогене антиоксидативне заштите и инхибицијом апоптозе кардиомиоцита.

Кардиопротективни механизам је посредован  $PI_3$  киназом (*phosphatidylinositol-3 kinase - PI3K*), а дјелимично зависи и од екстрацелуларно регулисане киназе (*extracellular regulated kinase - ERK1/2*). Ови сигнални путеви су независни од глукозе. Протективна улога ретиноид X рецептора је такође везана за повреду ћелија која настаје механизмом хипоксија/реоксигенација. GLP-1 још инхибише и палмитат- и церамид-индуковано фосфатидил серин излагање и фрагментацију DNA (120).



Слика 6. Утицај GLP-1RAs на кардиоваскуларни систем



## 1.8.2 Лираглутид

### 1.8.2.1 Фармакологија лираглутида

Лираглутид је други развијени GLP-1R, који показује 97% хомологије са природним инкретин хормоном, са модификацијама на два мјеста (на позицијама 26 и 34) и додатком ланца масних киселина на 16. угљениковој позицији. Ланац масних киселина продужава дјеловање лираглутида, што му омогућава примјену једном дневно. Механизам дјеловања лираглутида је сличан дјеловању ендогених хормона, што укључује повећано лучење инсулина, смањено лучење глукагона, продужено гастрично пражњење, и осјећај ситости (119).

### 1.8.2.2 Фармакокинетика и фармадинамика лираглутида

Након субкутане администрације лираглутид се споро апсорбује, а његова максимална концентрација у крви се достиже за 8-12 часова, а биорасположивост у том тренутку износи око 55%. Просјечна стабилна концентрација у крви износи 128 ng/mL при субкутаној апликацији у дози од 1.8 mg. Преко 98% лираглутида чврсто се веже за плазма протеине са процијењеним клиренсом у распону од 0.6-1.2 L/h. Клиренс је исти без обзира на старост особе, примијењене дозе и мјеста администрације (119).

Полуживот елиминације је око 13 часова без трагова неметаболизованог лираглутида у урину и фецесу. Он се метаболише на сличан начин као и други велики протеини, деградацијом на пептиде, аминокиселине и фрагменте масних киселина, због чега постоји веома мала могућност да има интеракцију са лијековима који се метаболишу преко CYP450. Код пацијената са поремећајем функције бубрега и јетре није потребно прилагођавати дозу, али је потребно бити посебно пажљив при примјени код пацијената у терминалној фази бубрежне болести јер нема много клиничких студија који обухватају ту популацију (119). Лираглутид је GLP-1R агонист који осим свог примарног ефекта снижавања глукозе у крви, дјелује кардиопротективно и неуропротективно. Третман лираглутидом побољшава ендотелну и срчану функцију кроз супресију оксидативног стреса и инфламације. Он блокира липидну пероксидацију, стимулише антиоксидансе, повећава биорасположивост NO, редукује проинфламаторне цитокине, фиброзу и ремоделовање (122–124).

## **2 РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ**

Примјена лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца код пацова:

1. снижава маркере оштећења миокарда изазваног изопреналином
2. поправља липидни профил код оштећења миокарда изазваног изопреналином
3. смањује концентрацију прооксиданаса и повећава ниво антиоксиданаса
4. спречава настанак апоптозе кардиомиоцита
5. повољно утиче на електрокардиографски регистроване функционалне карактеристике срца код пацова којима је оштећење миокарда индуковано изопреналином
6. повољно утиче на електрокардиографски и ехокардиографски регистроване функционалне карактеристике срца код пацова којима је оштећење миокарда индуковано изопреналином
7. спречава настанак попуштања срца

### 3 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Испитати ефекте индуктора оштећења срца изопреналина на:
  - 1) Промјене у електричном запису активности срца (ЕКГ) пацова
  - 2) Промјене у ехокардиографским параметрима срца (ЕХО) пацова
  - 3) Индекс срчане масе (ИСМ), одређен помоћу формуле:  $ИСМ = [\text{маса срца (g)} / \text{тјелесна маса пацова (g)}] \cdot 1000$
  - 4) Концентрацију серумских маркера оштећења срчаног мишића пацова: hsTnI, NT-proBNP, LDH, AST и ALT
  - 5) Маркере оксидативног стреса у лизату еритроцита: SOD, CAT, GSH
  - 6) Прооксидативне маркере у плазми:  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$ , TBARS (индекс липидне пероксидације)
  - 7) Биохемијске маркере у серуму пацова: Нсу, глукоза, укупни холестерол, LDL, HDL, триглицериди
  - 8) Патохистолошке промјене у срцу пацова (присуство инфламације у пољу оштећења, оштећење кардиомиоцита)
  - 9) Имунохистохемијску анализу апоптозе у миокарду
2. Испитати ефекте примјене лираглутида на наведене параметре у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином.
3. Испитати ефекте примјене лираглутида на наведене параметре у превенцији попуштања срца изазваног изопреналином.

## 4 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

### 4.1 Експерименталне животиње

Мужјаци *Wistar albino* пацова су држани у контролисаним лабораторијским условима, собне температуре  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ , влажности ваздуха  $55\pm 5\%$  и циклуса свјетло/тама 12/12 сати, почевши од 08:00 часова. Огледне животиње, процедуре и протоколе одобрила је Етичка комисија за заштиту и добробит огледних животиња Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци (број 18/1.190-13/22 од 01.06.2022. године). Смјештај и брига о животињама спроведена је према Смјерницама за његу и употребу лабораторијских животиња Националног института за здравље (*National Institute of Health - NIH*).

### 4.2 Експериментални модел оштећења миокарда

Експериментални модел оштећења миокарда је изазван изопреналином који се апликује у дози од 85 mg/kg растворен у 1ml/kg тјелесне масе (ТМ) 0.9% NaCl током два дана, са размаком од 24 сата између апликација (125,126).

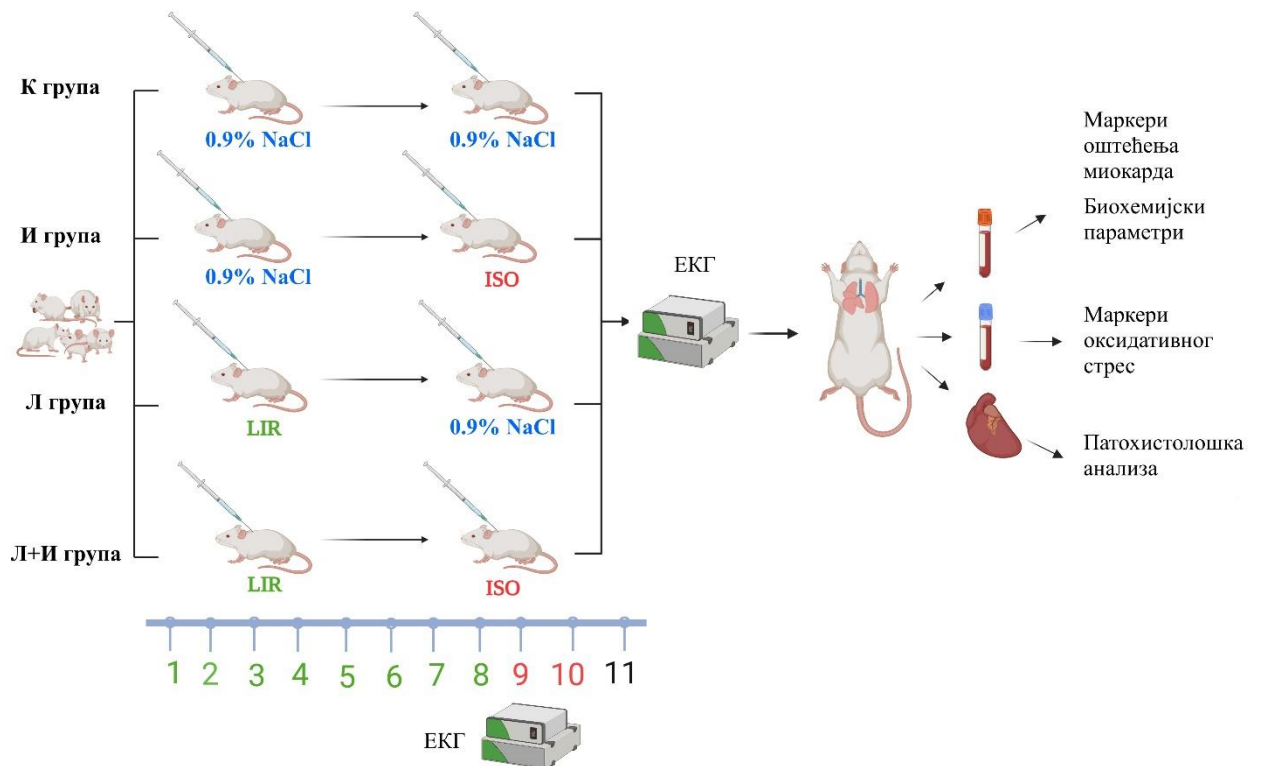
### 4.3 Групе експерименталних животиња – примјена лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда

Све животиње (n=29) претходно су третиране физиолошким раствором или лираглутидом током 10 дана, а 9. и 10. дана су примали физиолошки раствор или изопреналин. Оне су подијељене у 4 групе:

1. **К група:** 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ током 10 дана + 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ 9. и 10. дана
2. **И група:** 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ током 10 дана + изопреналин 85 mg/kg ТМ 9. и 10. дана
3. **Л група:** лираглутид у дози од 1.8 mg/kg ТМ током 10 дана + 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ 9. и 10. дана

**4. Л+И група:** лираглутид у дози од 1.8 mg/kg ТМ током 10 дана + изопреналин 85 mg/kg ТМ 9. и 10. дана

Експерименталне групе и дизајн експеримента примјене лираглутида у предтретману акутног оштећења миокарда приказан је на Слици 7.



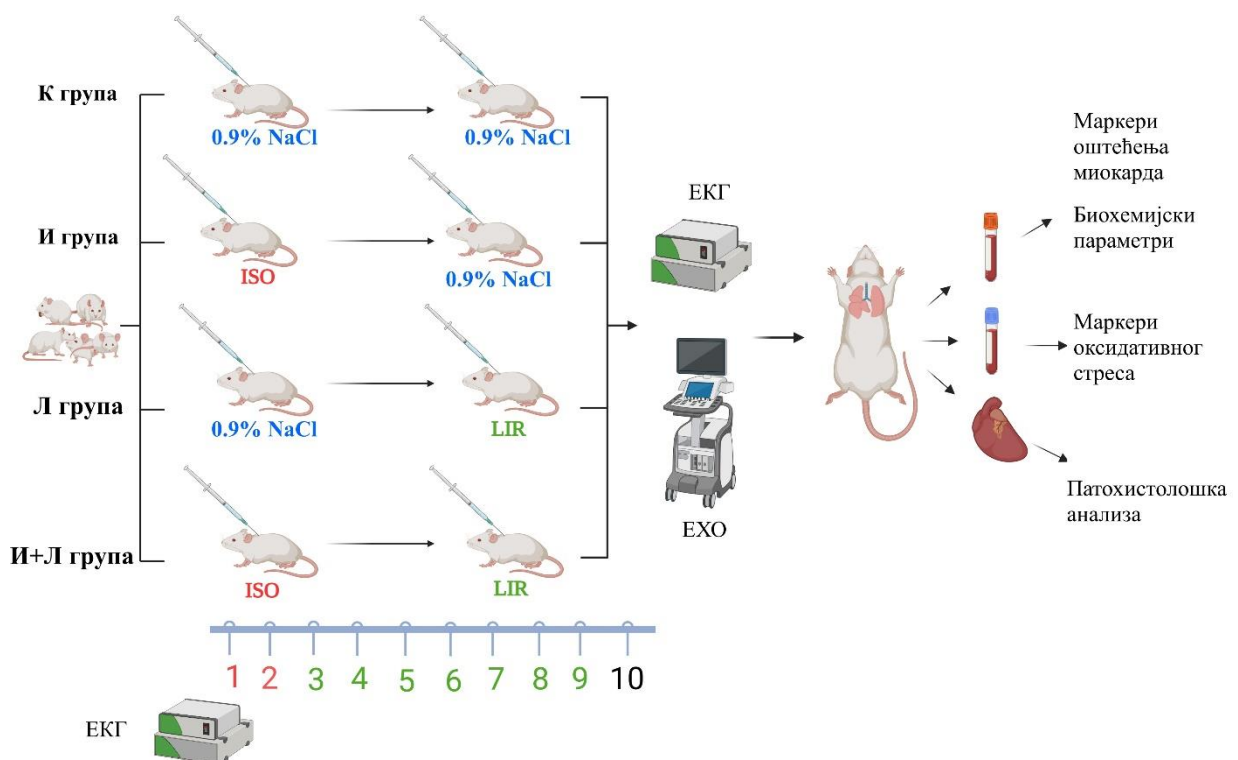
Слика 7. Дизајн студије примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда

LIR - лираглутид, ISO - изопреналин, 0.9% NaCl – физиолошки раствор

#### 4.4 Групе експерименталних животиња – примјена лираглутида у превенцији попуштања срца

Све животиње (n=29) су третиране физиолошким раствором или изопренилином 1. и 2. дана, а наредних 7 дана су примали физиолошки раствор или лираглутид. Оне су подијељене у 4 групе (Слика 8):

- К група:** 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ 1. и 2. дана + 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ током наредних 7 дана
- И група:** изопренилин 85 mg/kg ТМ 1. и 2. дана + 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ наредних 7 дана
- Л група:** 0.9% NaCl 1 ml/kg ТМ 1. и 2. дана + лираглутид у дози од 1.8 mg/kg ТМ наредних 7 дана
- И+Л група:** изопренилин 85 mg/kg ТМ 1. и 2. дана + лираглутид у дози од 1.8 mg/kg ТМ наредних 7 дана



Слика 8. Дизајн студије примјене лираглутида у превенцији попуштања срца

LIR - лираглутид, ISO - изопренилин, 0.9% NaCl – физиолошки раствор

#### **4.5 Електрокардиографија (ЕКГ) код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда и попуштања срца**

Пацови су анестезирани комбинацијом кетамина (30 mg/kg) и ксилазина (5 mg/kg) (127) прије ЕКГ снимања. Кориштен је ЕКГ апарат *CardioTouch 3000* за хуману употребу, али са прилагођеним електродама које су се стављале на сва четири екстремитета пацова. Снимање ЕКГ обављено је осетљивошћу од 2 cm = 1 mV и брзином снимања од 25 mm/s. За анализу је кориштен II одвод, у којем је су праћени срчана фреквенција (откуцај/min), QT интервал (s) и амплитуда QRS мјерена од врха до врха (mV) (122).

ЕКГ је снимљен три пута. Код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопренилином ЕКГ снимање обављено је :

1. 9. дана експеримента, прије прве дозе изопренилина
2. 9. дана експеримента, 10 минута након прве дозе изопренилина
3. 11. дана експеримента, 24 часа након друге дозе изопренилина а непосредно прије жртвовања.

Код примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопренилином ЕКГ снимање обављено је :

1. 1. дана експеримента, прије прве дозе изопренилина
2. 1. дана експеримента, 10 минута након прве дозе изопренилина
3. 10. дана експеримента, прије жртвовања

#### 4.6 Ехокардиографија (ЕХО) код примјене лираглутида у превенцији попуштања срца

На крају експеримента, 10. дана, сви пацови су анестезирани комбинацијом кетамина (30 mg/kg) и ксилазина (5 mg/kg) (127). Након увођења у анестезију, пацови су постављени у леђни положај. Трансторакална дводимензионална ехокардиографија урађена је кориштењем дигиталног ултразвучног апарата *Logio 400 CL, Pro Series, USA* са 11 MHz фазним трансдуктором (сондом) за процјену структуре и функције срца. Дводимензионални ехокардиографски снимци у М-моду добијени су у парастерналном пресјеку (дуге и кратке осе) на врховима папиларних мишића.

Ехокардиографски су се регистровали сљедећи дијаметри:

1. дебљина међукоморне преграде у дијастоли (IVSd)
2. дебљина међукоморне преграде у систоли (IVSs)
3. унутрашњи пречник лијеве коморе у дијастоли (LVIDd)
4. унутрашњи пречник лијеве коморе у систоли (LVIDs)
5. дебљина задњег зида у дијастоли (PWDd)
6. дебљина задњег зида у систоли (PWDs)

Остали параметри израчунавају се на основу Teicholz-ових формула, и то:

1. волумен крви на крају дијастоле – енд-дијастолни волумен (EDV):  $EDV \text{ (mL)} = 1.047 \cdot (LVIDd)^3$
2. волумен крви на крају систоле – енд-систолни волумен (ESV):  $ESV \text{ (mL)} = 1.047 \cdot (LVIDs)^3$
3. ударни волумен (SV):  $SV \text{ (mL)} = EDV - ESV$
4. ејекциона фракција лијеве коморе (EF):  $EF \text{ (\%)} = SV / EDV \cdot 100$
5. фракционо скраћење лијеве коморе:  $FS \text{ (\%)} = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd \cdot 100$  (128,129).



#### 4.7 Узимање узорака крви и њихова анализа

На крају експеримента, 11. дана, код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда, а 10. дана у превенцији попуштања срца, сви пацови су анестезирани, урађен им је ЕКГ, а онима који су примали лираглутид у терапији попуштања срца, и ЕХО. Анестезираним животињама урађена је торакотомија, те су узети узорци крви из аорте и сакупљени у *vacutainer* епрувете за серум и епрувете за плазму које садрже натријум цитрат као антикоагулантно средство. Узорци крви за серум су остављени да стоје на собној температури 20 минута док се не формира угрушак, а затим центрифугирани 5 минута на 3.000 грм. Узорци плазме су центрифугирани 10 минута на 3.000 грм.

Лизат еритроцита је добијен након одвајања плазме. Изоловани еритроцити су испрани три пута у три запремине хладног физиолошког раствора. Сви узорци су чувани на температури од  $-80^{\circ}\text{C}$  до мјерења.

Узорци серума су се користили за мјерење:

- маркера оштећења миокарда:
  - високо сензитивни тропонин I (hs TnI), N-терминални прохормон можданог натриуретског пеприда (NT-proBNP), аспартат аминотрансфераза (AST), аланин аминотрансфераза (ALT), лактат дехидрогеназа (LDH)
- других биохемијских параметара:
  - глукоза, Нсу, укупни холестерол (*total cholesterol - TC*), холестерол велике густине (*high density lipoprotein - HDL*), холестерол мале густине (*low density lipoprotein - LDL*), триглицериди (*triglycerides - TG*)

Узорци плазме су се користили за мјерење:

- маркера оксидативног стреса:
  - реактивне супстанце тиобарбитурне киселине (*thiobarbituric acid reactive substances - TBARS*), азот моноксид мјерен у форми нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$

Узорци лизата еритроцита су кориштени за мјерење:

- маркера антиоксидативне заштите
  - SOD, CAT, GSH

Вриједности AST, ALT, LDH, глукоза, TC, HDL, LDL и TG мјерени су на апарату *Abbot Alinity ci-series* методом хемилуминисцентног имуноесеја (*chemiluminescence immunoassay - CLIA*). Hcy и hs TnI мјерени су на апарату *Abbot Alinity ci-series* методом хемилуминисцентног имуноесеја микропартикулама (*chemiluminescent microparticle immunoassay - CMIA*). Концентрација NT-proBNP је одређена ензимски повезаним имуносорбентним тестом (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA*).

Прооксиданси, TBARS,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ , као и антиоксиданси, SOD, CAT и GSH, мјерени су спектрофотометријски на апарату *Shimadzu UV 1800*, Јапан.

TBARS, као маркер липидне пероксидације, мјерен је у реакцији тиобарбитурне киселине (ТБА) и малондиалдехида. Након мијешања узорка плазме са 1% тиобарбитурном киселином и 0,05 NaOH, мјерење је извршено на таласној дужини од 530 nm (130).

Азот моноксид је нестабилан, те брзо даје продукте као што су нитрити, који се могу мјерити *Griess-овом* методом. У овој методи користи се 30% сулфосалицилна киселина и *Griess-ов* реагенс. Мјерење се врши на 550 nm (131).

Концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми је мјерена *Pick u Keisari* методом која се заснива на оксидације  $\text{H}_2\text{O}_2$  са фенол црвеним, у реакцији коју катализује пероксидаза. Након инкубације од 10 минута на собној температури, мјери се концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  на таласној дужини од 610 nm (132).

Ниво плазматског  $\text{O}_2^-$  се мјери у реакцији  $\text{O}_2^-$  са нитро тетразолијевим плавим (*Nitro Blue Tetrazolium - NTB*) и TRIS пуфером, при таласној дужини од 530 nm (133).

Активност SOD, CAT и концентрација GSH су мјерене *Beutler-овим* методама (134–138). Активност SOD се мјери након мијешања лизата еритроцита са карбонатним пуфером, а потом и епинефрином. Мјерење се врши на 470 nm таласне дужине. За мјерење активности CAT користи се водени раствор  $\text{H}_2\text{O}_2$ , каталаза пуфер и разблажени узорак лизата.

Мјерење активности овог ензима се врши на таласној дужини од 360 nm (134–138). Одређивање концентрације редукованог глутатиона се заснива на оксидацији GSH са 5,5-дитио-бис-6,2-нитробензоичне киселине (DTNB) методом по *Beutler*-у. Детекција количине GSH се вршила на 420 nm (139).

## **4.8 Узимање узорка ткива, патохистолошка и имунохистохемијска анализа**

### *4.8.1.1 Патохистолошка анализа*

Након жртвовања животиња, изолована срца су стављена у мале пластичне посуде са 10% формалином за хистолошку анализу. Ткиво је фиксирано имерзионим поступком у 4% неутрално пуферисаном формалдехиду у току најмање 24 h. Потом је дехидратисано алкохолима растућих концентрација, просвјетљавано у ксилолу и калупљено у парапласту апаратом за калупљење. Калупи ткива су серијски сјечени микротомом на исјечке дебљине 4  $\mu$ m. Исјечци срца су обојени хематоксилин-еозин методом. Наведено бојење омогућава морфолошку анализу промјена на срцу. За анализу се користио светлосни микроскоп са “wide zoom” камером.

При патохистолошкој анализи, оштећење миокарда је анализирано и означено са скором од 1 до 4 :

- Скор 1 - означава да нема патолошких промјена у миокарду;
- Скор 2 - постоји благо оштећење, са мултифокалном дегенерацијом и благом инфилтрацијом запаљења или фокалним оштећењем кардиомиоцита;
- Скор 3 – указује на умјерено оштећење, са тешком дегенерацијом миофибрила и/или дифузном упалом;
- Скор 4 – постоји тешко оштећење, некроза са дифузним запаљењем.

Резови срца су оцијењени и израчунат је просјечни патохистолошки скор по групи.

#### 4.8.1.2 Имунохистохемијска анализа

За имунохистохемијску анализу кориштен је стандардни протокол. Узорци ткива су фиксирани у 10% пуферованом формалину, калуљени у парафину, те потом исјечени на микротому на резове дебљине 3-5 $\mu$ m. Исјечци су дехидрисани и депарафинисани, потом су кухани у цитратном пуферу (0,01 мол/Л цитратног пуфера, рН 6.0) на температури од 96°C и РТ модулу (*Thermo Scientific*<sup>TM</sup>). Кориштена су слједећа антителијела:

- За каспазу-3: *cleaved caspase-3 (Asp175)*, разблажења 1:200, инкубације 24h на 4°C у влажној комори
- За ВАХ: *VAX (ab32503)*, разблажења 1:300, инкубације 1h на собној температури
- За Вc1-2: *Vcl-2 (ab196495)*, разблажења 1:200, инкубације 1h на собној температури
- За NF-кВ: *NF-кВ (ab16502)*, разблажења 1:100, инкубације 15 минута на собној температури

Исјечци су анализирани на полимерном детекционом систему (*UltraVision LP Detection system HRP polimer*). Реакција антиген-антитијело је регистрована након петоминутне инкубације са 3,3'-диаминобензидин тетрахлорид (*diaminobenzidine tetrachloride - DAB*) хромогеном. Квантификација имуно-позитивних ћелија је изражена формулом:  $\% \text{ позитивних ћелија} = \frac{\text{број позитивно обојених ћелија}}{\text{укупан број ћелија}} \cdot 100$

#### 4.9 Статистичка анализа

За статистичку обраду резултата употребљене су методе дескриптивне статистике (средња вриједност, стандардна грешка, стандардна девијација и варијанса). За тестирање разлика између група користили су се параметријски или непараметријски тестови анализе варијансе са одговарајућим *posthoc* тестом (*Bonferonni/Kruskall-Wallis/Tukey*), а за тестирање разлика између група Wilcoxon-ов тест за везане узорке. За анализу података кориштени су статистички програми *SPSS 20,0 for Windows* и *MedCalc*.

## 5 РЕЗУЛТАТИ

### 5.1 Резултати примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином

#### 5.1.1 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином на масу срца, тјелесну масу и индекс срчане масе

Лираглутид је изазвао изражен губитак телесне масе (ТМ), посебно код акутног оштећења миокарда (АОМ) изазваног изопреналином ( $p < 0,05$  Л+И у односу на И) (Табела 4). Двије дозе изопреналина значајно су повећале срчану масу (СМ), а примјена лираглутида код акутног оштећења миокарда је превенирала ове ефекте изазване изопреналином ( $p < 0,05$ ). Десетодневна примјена лираглутида ублажила је промјене индекса срчане масе (ИСМ) код изопреналином изазваног акутног оштећења миокарда, али их није превенирала.

Табела 4. Ефекат примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином на промјене ТМ, СМ и ИСМЗ

Parameters	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	Л+И
ТМ (g)	261,50±10,50	226,38±5,84*	216,33±8,16*	200,11±3,38* †
СМ (g)	0,79±0,02	1,13±0,039*	0,71±0,34†	0,95±0,040* † ‡
ИСМ	3,057±0,80	5,011±0,13**	3,305±0,86†	4,79±0,19** ‡

ТМ – тјелесна маса; СМ – срчана маса; ИСМ – индекс срчане масе (однос масе срца и масе тијела); К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

### 5.1.2 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца изазваног изопреналином на ЕКГ

ЕКГ анализа је показала повећање фреквенције срца код акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином са највећом стопом у изопреналинској групи након прве дозе изопреналина (Табела 5). Прва доза изопреналина изазвала је повећање амплитуде QRS мјерено од врха до врха (mV) и негативне Т таласе на ЕКГ запису. Примјена лираглутида је ублажила повећање срчане фреквенције изазвано изопреналином, повећање амплитуде QRS од врха до врха и смањење QT интервала, али без достизања статистичке значајности. Примјена лираглутида је конвертовала негативне Т таласе у позитивне, показујући његов повољан ефекат на акутно оштећење миокарда. ЕКГ је показао присуство аритмија у изопреналинској групи након прве дозе изопреналина (са учесталошћу од 12,5%) и 24 сата након друге дозе изопреналина (са учесталошћу од 25%). Примјена лираглутида је превенирала појаву аритмија изазваних изопреналином.

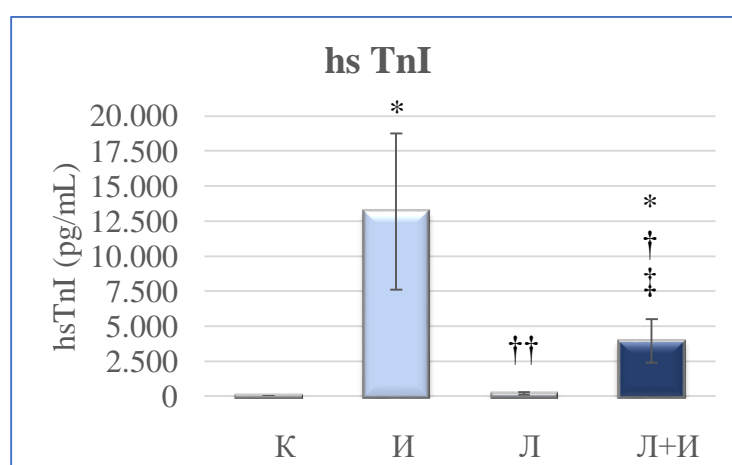
Табела 5. ЕКГ параметри: срчана фреквенција, QT интервал и амплитуда QRS код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	Л+И
Ф 1 (откуцаји/min)	226,56±8,41	433,03±16,78**	248,42±9,42††	430,55±10,50** ‡‡
Ф 2 (откуцаји/min)	223,35±7,14	283,81±14,95*	222,53±3,68†	271,19±14,87
QT 1 (s)	0,173±0,008	0,085±0,003**	0,167±0,004††	0,080±0,003** ‡‡
QT 2 (s)	0,170±0,010	0,140±0,004	0,173±0,008	0,155±0,012
QRS 1 (mV)	0,262±0,022	0,572±0,029**	0,237±0,021††	0,564±0,053** ‡‡
QRS 2 (mV)	0,300±0,033	0,222±0,011*	0,242±0,022	0,194±0,015*

Ф 1 – срчана фреквенција након прве дозе изопреналина, QT 1 – QT интервал након прве дозе изопреналина; QRS 1 – QRS од врха до врха након прве дозе изопреналина; Ф 2 – срчана фреквенција 24 часа након друге дозе изопреналина; QT 2 – QT интервал 24 часа након друге дозе изопреналина; QRS 2 – QRS од врха до врха 24 часа након друге дозе изопреналина; К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*p<0,05 у односу на К; \*\*p<0,001 у односу на К; †p<0,05 у односу на И; ††p<0,001 у односу на И; ‡‡p<0,001 у односу на Л

### 5.1.3 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином на биохемијске параметре и серумске маркере оштећења миокарда

Најосетљивији маркер оштећења миокарда је срчани тропонин. Резултати су показали да је ниво hsTnI значајно повећан у групи И у односу на К ( $p < 0,001$ ), што је доказ да је изопреналин изазвао акутно оштећење миокарда (Слика 9). Примјена лираглутида је превентирала овај пораст hsTnI.



Слика 9. Концентрација hsTnI у серуму

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ††  $p < 0,001$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

AST, ALT и LDH су такође коришћени као маркери акутног оштећења миокарда. Регистрована је повећана активност AST и ALT у И групи ( $p < 0,05$  у поређењу са К), што указује на то да је изопреналин изазвао оштећење миокарда. Активност AST, ALT и LDH је смањена у Л+И групи у поређењу са И групом, што показује да је примјена лираглутида ублажила ефекте изопреналина.

Значајно смањење нивоа глукозе у крви регистровано је код свих пацова третираних изопреналином (Табела 6). Примјена лираглутида није утицала на вриједности глукозе код пацова третираних изопреналином.

Табела 6. Биохемијски параметри серума код примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда пацова третираних изопреналином

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	Л+И
Глукоза (mmol/L)	24,75±3,17	17,28±0,94*	22,38±1,62†	17,53±1,24* ‡
AST (U/L)	252,00±41,31	699,12±236,59*	284,50±36,84†	415,11±52,29
ALT (U/L)	110,00±33,85	176,00±56,38*	80,16±12,46†	144,66±20,03
LDH (U/L)	1206±358,60	1826,50±232,29	1491,00±264,07	1372,11±159,36

AST - аспартат аминотрансфераза; ALT - аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа; К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л



Липидни профил је анализиран да би се истражили ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда на метаболизам липида. Примјена лираглутида довела је до значајног смањења концентрације укупног холестерола и LDL код акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином ( $p < 0,001$ ) (Табела 7). Повећање HDL је забиљежено у И групи ( $p < 0,05$  у односу на К), а примјена лираглутидом је значајно смањила његову концентрацију ( $p < 0,001$ ). Лираглутид је, такође, спријечио хиперхомоцистеинемију ( $p < 0,05$  Л+И у односу на И).

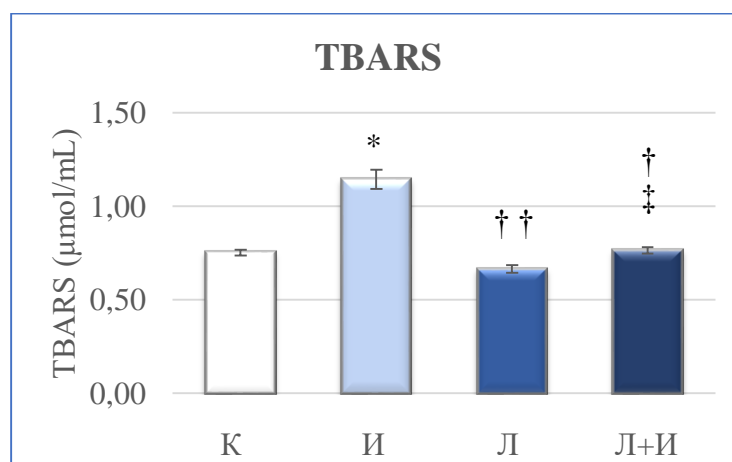
Табела 7. Липидни профил пацова код којих је лираглутид примијењен у превенцији акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	Л+И
<b>ТС (mmol/L)</b>	1,02±0,07	1,46±0,05	0,75±0,02††	0,78±0,04††
<b>HDL (mmol/L)</b>	0,38±0,03	0,56±0,02*	0,28±0,02††	0,31±0,01††
<b>LDL (mmol/L)</b>	0,16±0,02	0,21±0,01	0,10±0,00* ††	0,14±0,02†
<b>TG (mmol/L)</b>	0,90±0,17	1,42±0,29	1,68±0,41	0,86±0,22
<b>Нсу (μmol/L)</b>	11,25±0,73	24,49±0,89**	12,71±0,77††	18,27±1,06* †

ТС – укупни холестерол; HDL – липопротеини велике густине; LDL – липопротеини мале густине; TG – триглицериди; Нсу - хомоцистеин; К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И

#### 5.1.4 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда на маркере оксидативног стреса

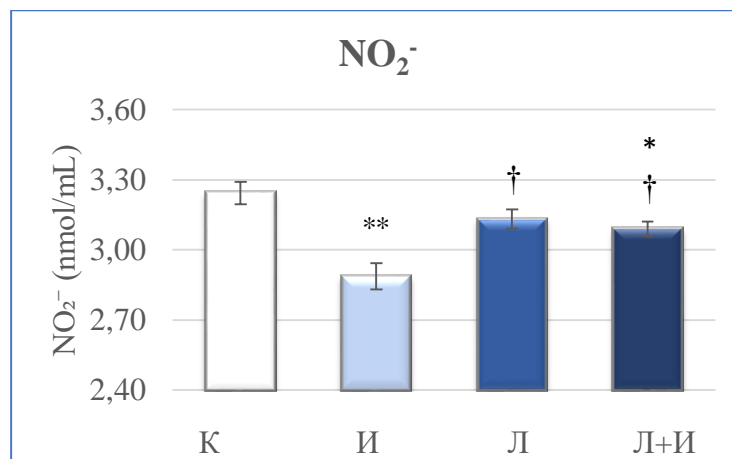
TBARS, као маркер липидне пероксидације, показао је значајно повећање у групи третираној изопреналином ( $p < 0,05$  у поређењу са контролом), што указује на учешће изопреналина у оксидативном стресу (Слика 10). Примјена лираглутида је показала антиоксидативне ефекте код акутног оштећења миокарда изазваног изопреналином ( $p < 0,05$ ).



Слика 10. Ниво TBARS у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ††† $p < 0,05$  у односу на Л

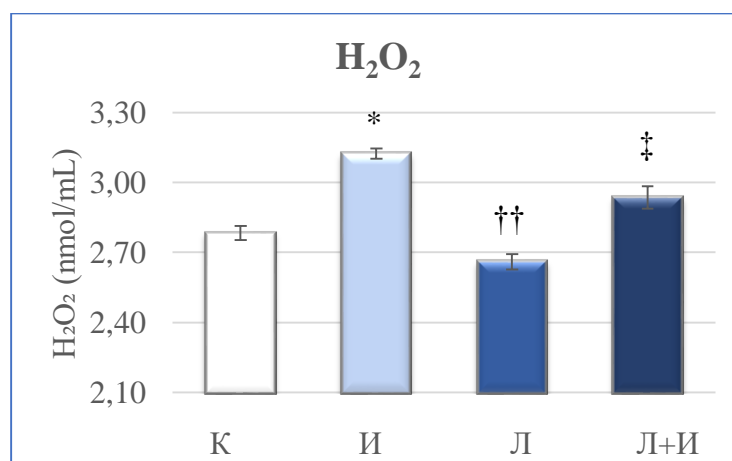
Изопреналин је изазвао смањен ниво  $\text{NO}_2^-$  ( $p < 0,001$  у поређењу са контролом) (Слика 11). Изопреналин редукује стварање RNS, али примјена лираглутида је значајно повећала  $\text{NO}_2^-$  у изопреналином-индукованом акутном оштећењу миокарда.



Слика 11. Концентрација  $\text{NO}_2^-$  у плазми

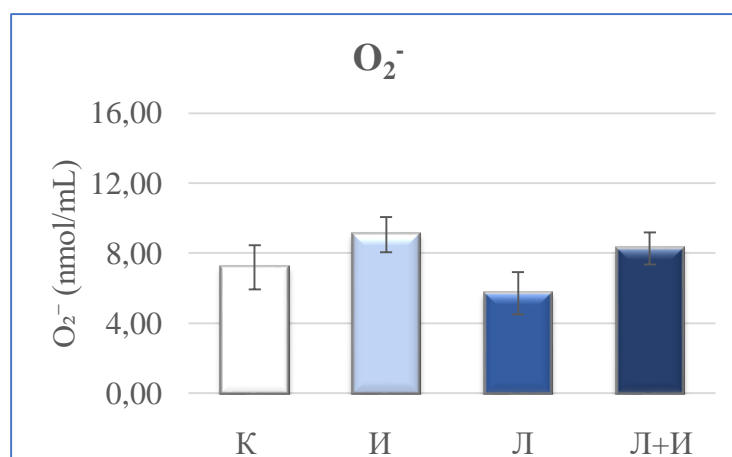
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

Нивои ROS ( $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ ) повећали су се у групи која је примала изопреналин, али је примјена лираглутида смањила производњу ROS код изопреналином-индукованог акутног оштећења миокарда (Слике 12 и 13).



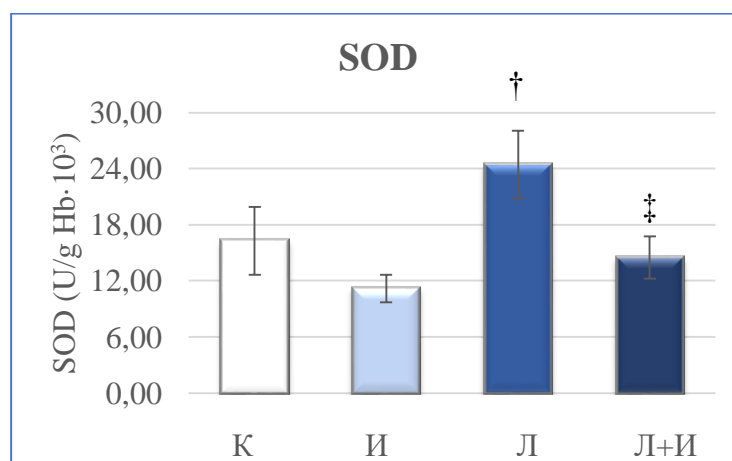
Слика 12. Концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И; †† $p < 0,05$  у односу на Л

Слика 13. Концентрација  $O_2^-$  у плазми

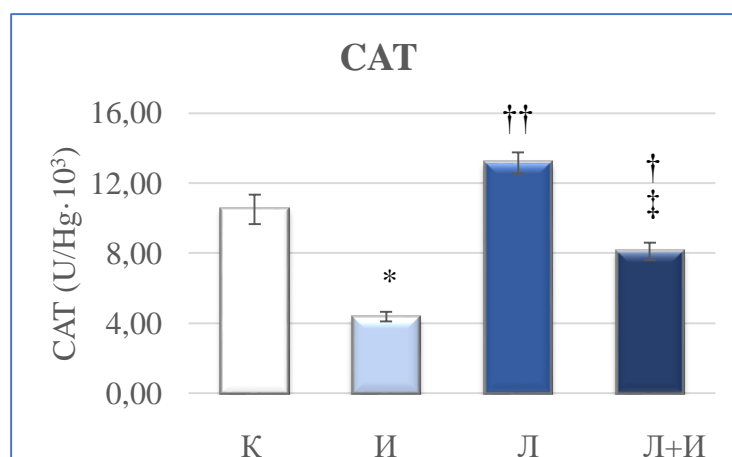
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).

SOD, CAT и GSH показали су значајно смањење у групи третираној изопреналином ( $p > 0,05$ ,  $p < 0,05$  и  $p < 0,001$ , редом) (Слика 14, 15 и 16). Примјена лираглутида је показала повољне ефекте на активност CAT ( $p < 0,05$ ) и ниво GSH ( $p < 0,05$ ).



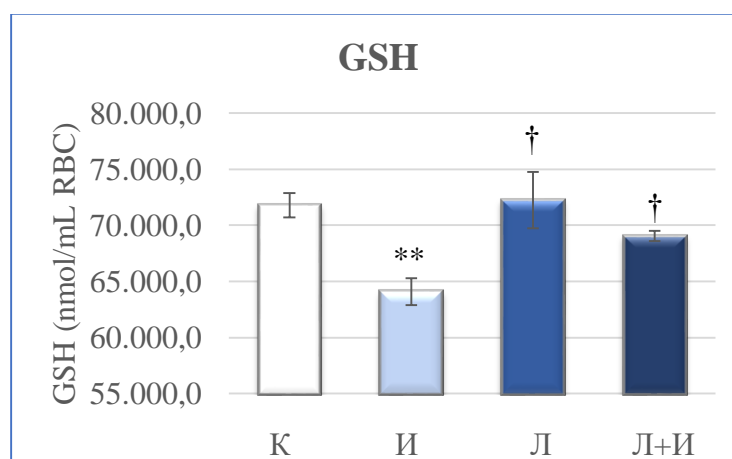
Слика 14. Активност SOD у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л



Слика 15. Активност САТ у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л



Слика 16. Концентрација GSH у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

### 5.1.5 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда на патохистолошке карактеристике

Урађена патохистолошка анализа је потврдила повољне ефекте примјене лираглутида. Извршено је скоровање од 1 до 4, при чему вриједност 1 значи физиолошке карактеристике ткива, док веће вриједности указују на оштећење ткива, и што је веће оштећење, већа је и вриједност скорa (Слика 17).

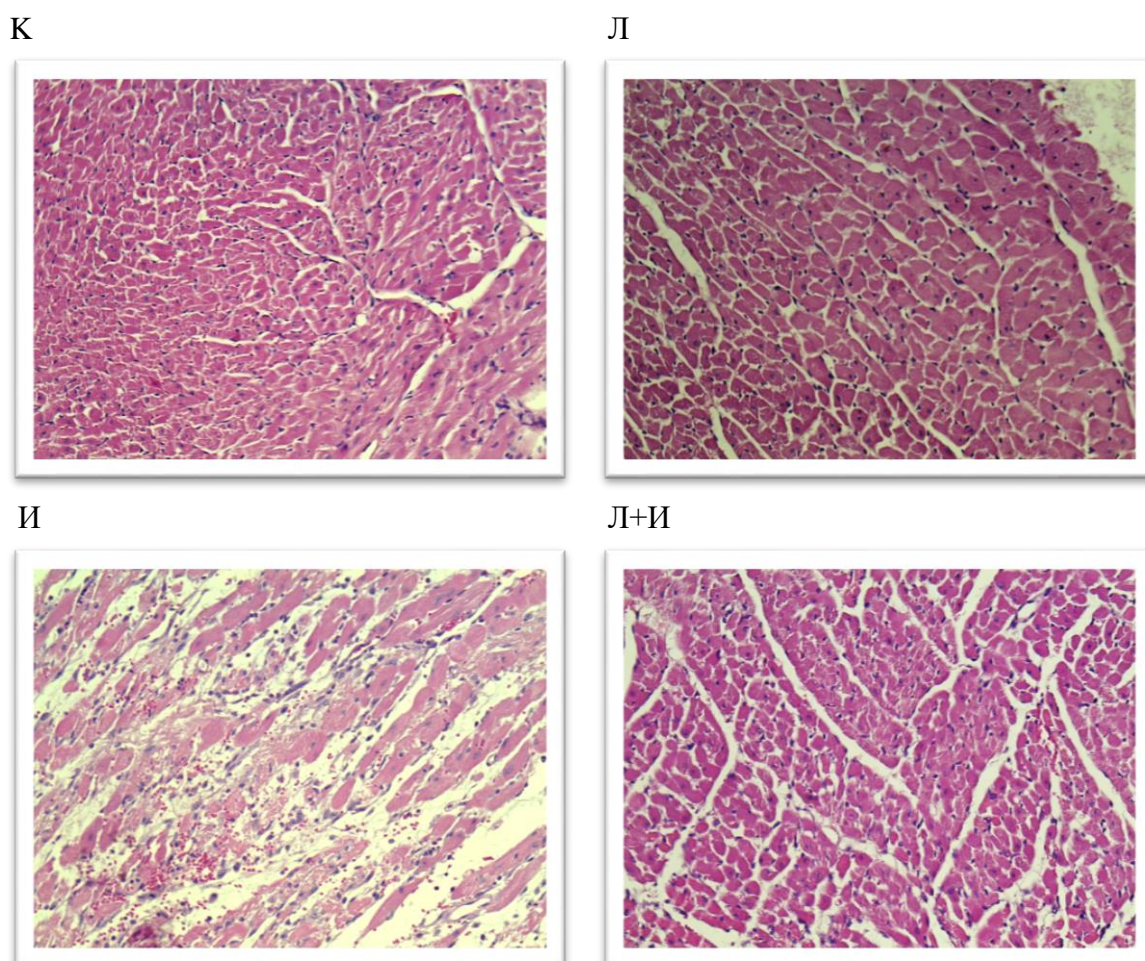


Слика 17. Просјечан патохистолошки скор оштећења миокарда

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана)

Препарат миокарда у контролној групи показује физиолошку морфологију миокарда, са нормалном структуром кардиомиоцита – скор 1 (Слика 18К). Примјена лираглутида није оштетила, нити промијенила структуру миокарда третираних пацова (Слика 1), миокард показује физиолошке карактеристике - скор 1. У изопреналинској групи присутна је фрагментација кардиомиоцита, интерстицијални едем, густ запаљенски инфилтрат и крварење - скор 4 (Слика 18Л).

Примјена лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда је ублажила промјене изазване изопреналином, што се може видјети и на хистолошком препарату миокарда групе пацова која је у предтретману примала лираглутид, а потом изопреналин (скор 2, Слика 18Л+И).



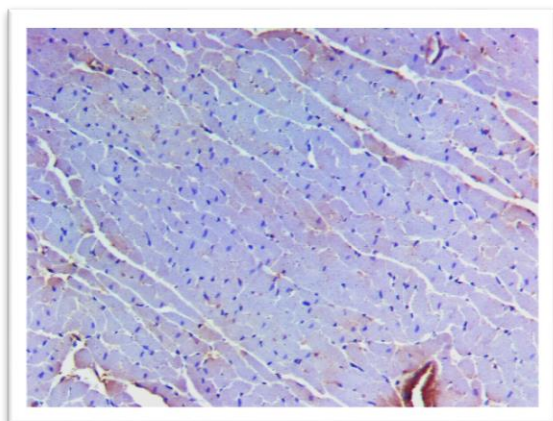
Слика 18. Препарат миокарда (Н&Е бојење)

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).

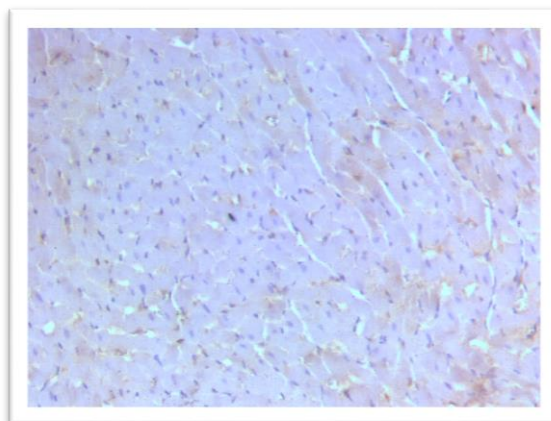
### 5.1.6 Ефекти примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења срца на маркере апоптозе

Анализом проапоптотског маркера ВАХ у ткиву миокарда. Слика 19 приказује ткиво миокарда код акутног оштећења срца у контролној групи, групи третираној изопреналином, лираглутидом и комбинацијом лираглутида и изопреналина. Утврђено је да је највећи проценат ћелија позитивних на овај маркер нађено у групи пацова третираних изопреналином, чак 94% ћелија (Слика 20). Лираглутид је остварио протективно дјеловање и за око 20% смањио оштећење узроковано дјеловањем изопреналина ( $p < 0,001$ ).

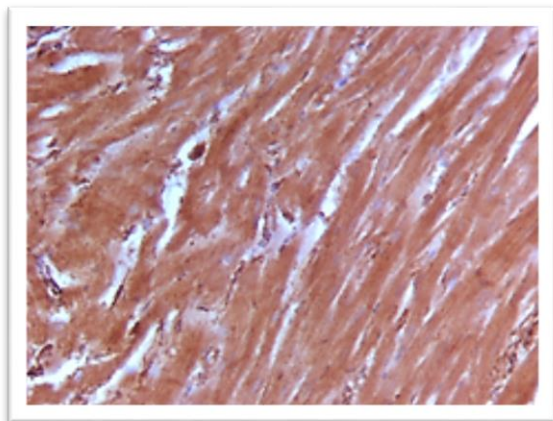
К



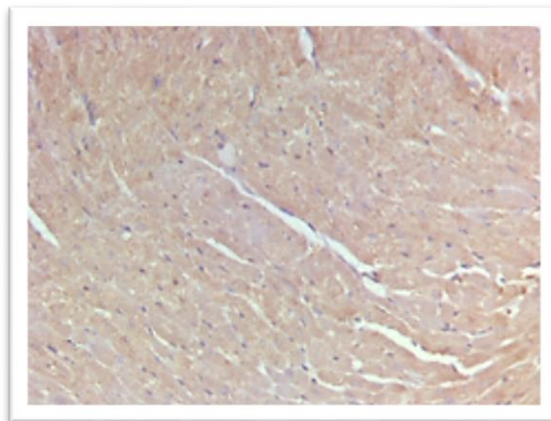
Л



И



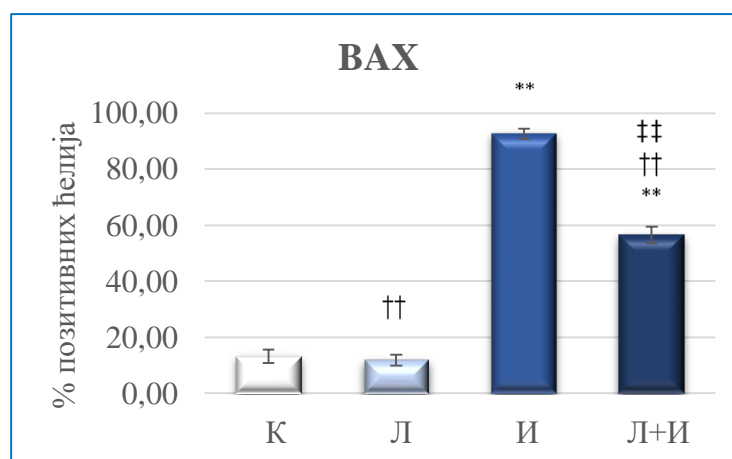
Л+И



Слика 19. Проапоптотски маркер ВАХ у миокарду испитиваних група

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).



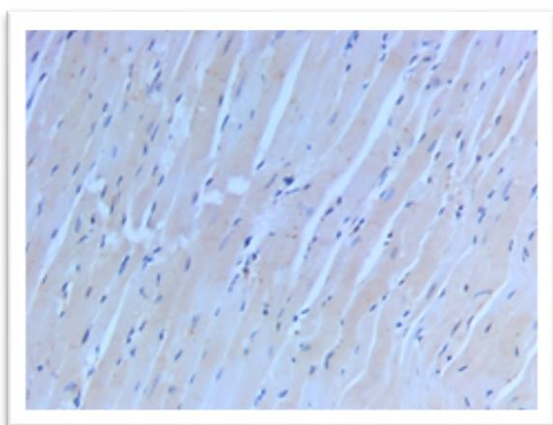


Слика 20. Процент ВАХ позитивних ћелија

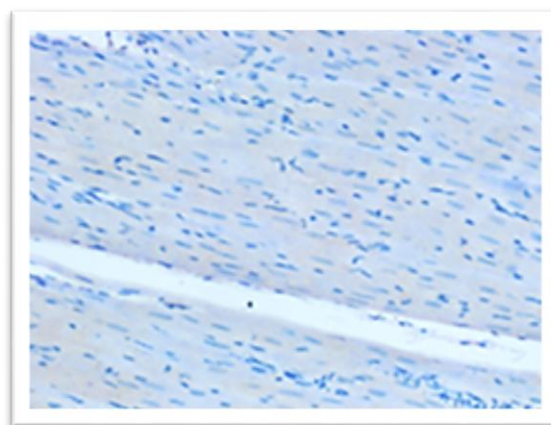
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И; ††† $p < 0,001$  у односу на Л

Проапоптотски маркер каспаза 3 је испитивана у ткиву све четири групе пацова. Резултати су показали да је највећи број позитивних ћелија био у миокарду изопреналином третираних пацова (70%), те да је лираглутид смањио број каспаза 3 позитивних ћелија за 28,5% код изопреналином индукованог акутног оштећења миокарда ( $p < 0,05$ ). Слика 21 приказује ткиво миокарда код акутног оштећења срца у свим експерименталним групама, а Слика 22 приказује проценат каспаза3 позитивних ћелија.

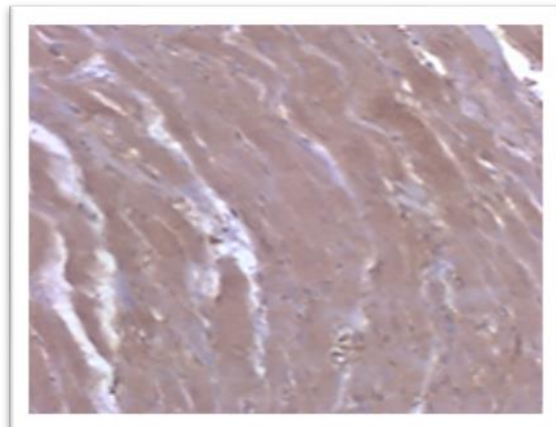
К



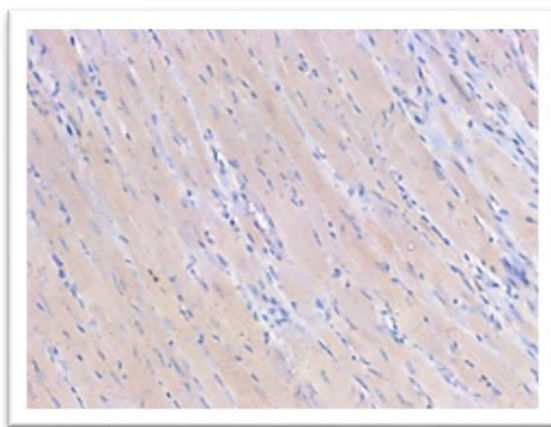
Л



И

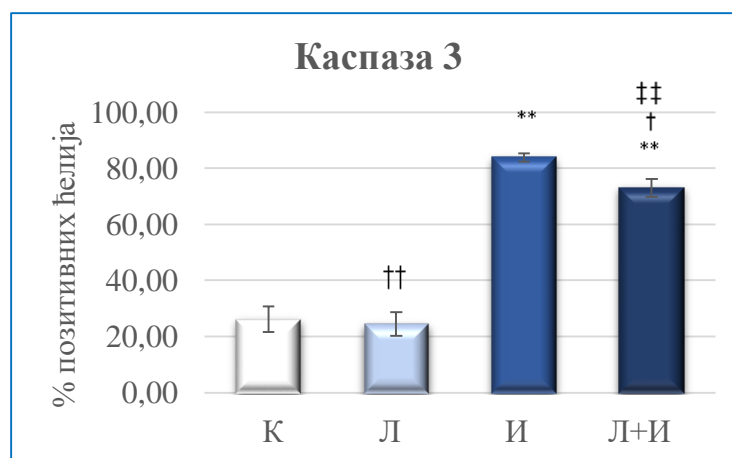


Л+И



Слика 21. Проапоптотски маркер каспаза 3

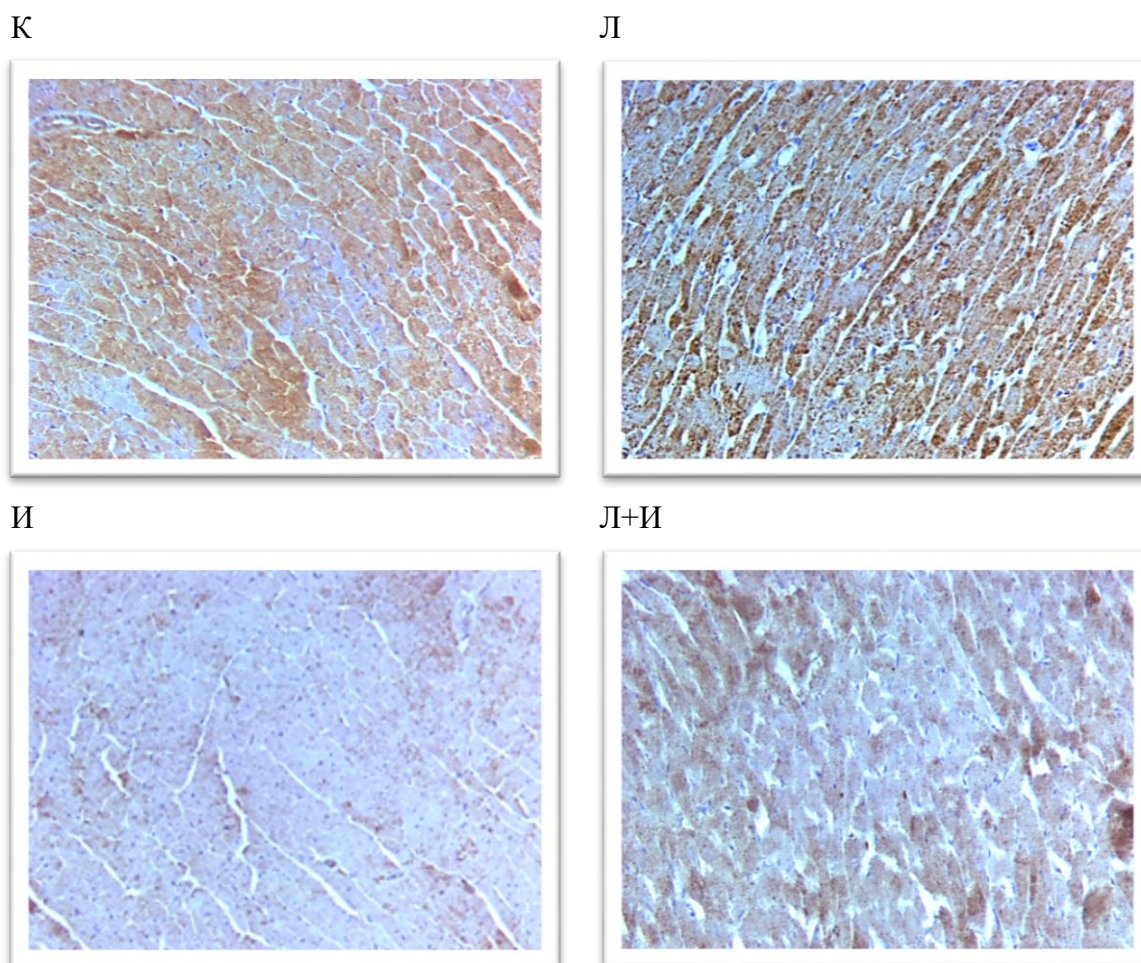
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).



Слика 22. Процент каспаза 3 позитивних ћелија

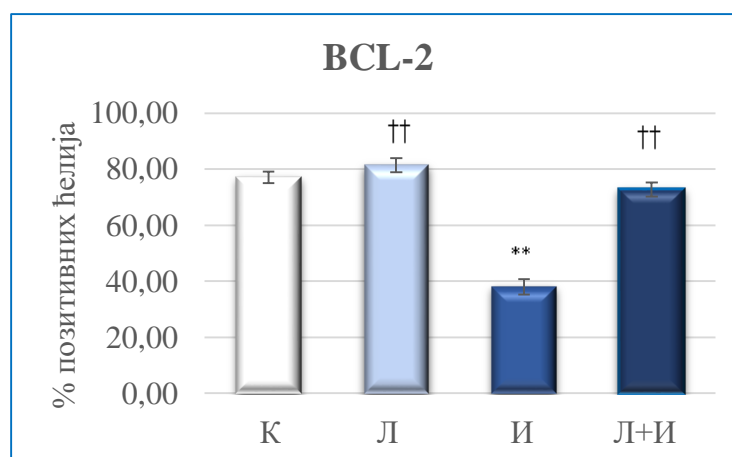
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ††† $p < 0,001$  у односу на Л

Анализа антиапоптогског маркера Bcl-2 је показала да је највећи број позитивних ћелија у групи пацова која је примала лираглутид (75,5%), а најмањи у изопреналином третираним пацовима (39,6%). Примјена лираглутида значајно је повећала овај антиапоптогички маркер ( $p < 0,001$ ). Ткиво срца и проценат позитивних ћелија на Bcl-2 приказан је на Слици 23 и Слици 24.



Слика 23. Антиапоптогски маркер Bcl-2

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).

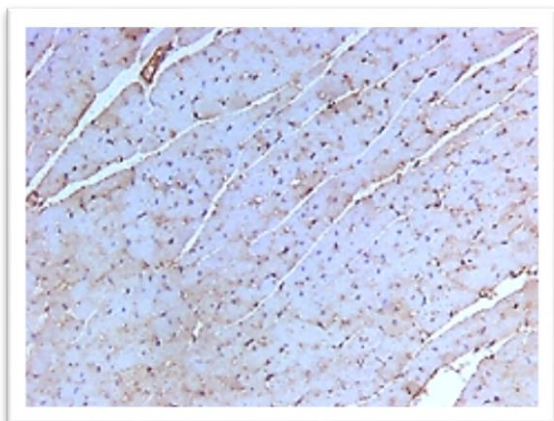


Слика 24. Bcl-2 позитивне ћелије

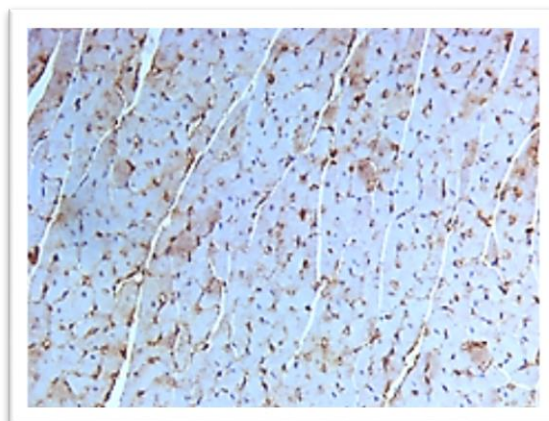
К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И

Имунохистохемијске анализе су показале највећи број NF-κB позитивних ћелија у изопреналинској групи (64,9%), као и да је лираглутид смањио тај број за 40% ( $p < 0,001$ ) (Слике 25 и 26).

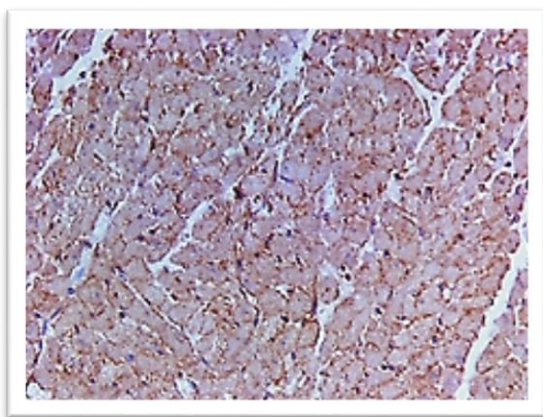
К



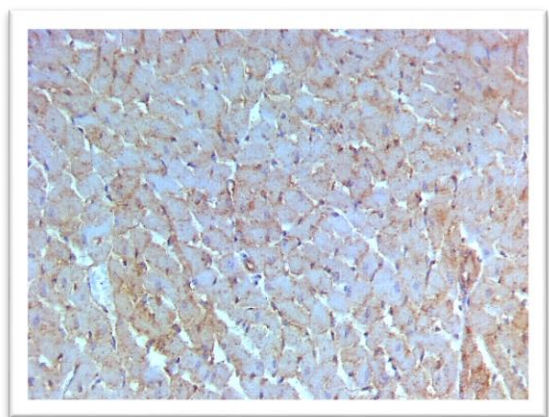
Л



И

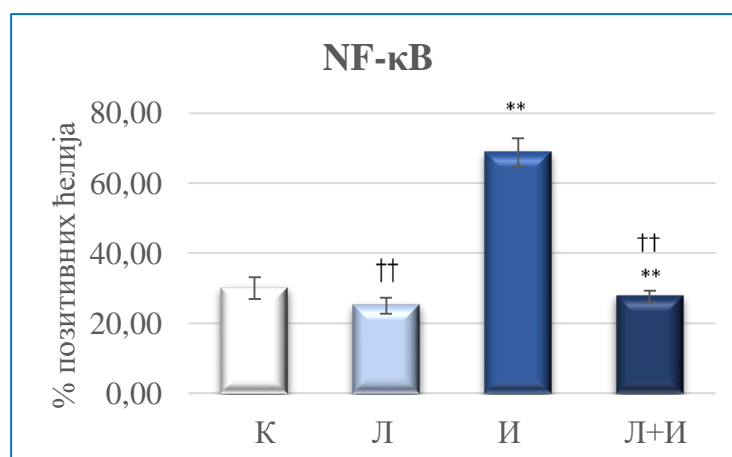


Л+И



Слика 25. NF-κB у миокарду испитиваних група

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).



Слика 26. NF-κB позитивне ћелије

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И

## 5.2 Резултати примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопреналином

### 5.2.1 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопреналином на масу срца, тјелесну масу и индекс срчане масе

Тјелесна маса је значајно снижена у групи пацова који су у третману добијали лираглутид, али и код оних који су након изазивања попуштања срца третирани лираглутидом (Табела 8). Ефекат редукције ТМ био је израженији у групи И+Л ( $p < 0,05$  у односу на И). Слични резултати су добијени и за масу срца, која је била најмања у групи која је након апликације изопреналина, била третирана лираглутидом ( $p < 0,05$  у односу на И). Пацови третирани са изопреналином показали су значајно повећање ИСМ, што указује на хипертрофију срца која се развила након оштећења миокарда ( $p < 0,05$  у односу на контролу).

Табела 8. Ефекат примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на СМ, ТМ, и ИСМ

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	И+Л
ТМ (g)	261,50±10,50	228,33±5,56	216,33±8,16†	191,10±11,59† **
СМ (g)	0,79±0,02	0,81±0,02	0,71±0,03	0,67±0,03* †
ИСМ	3,057±0,80	3,547±0,09*	3,305±0,86	3,56±0,17

ТМ – тјелесна маса; СМ – срчана маса; ИСМ – индекс срчане масе; К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И



## 5.2.2 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на ЕКГ параметре

Највећи пораст фреквенције срца забиљежен је у И и И+Л групи након прве дозе изопренилина ( $p < 0,001$  у односу на контролу) јер се ове двије групе на почетку експеримента нису разликовале (Табела 9). На сљедећем снимању ЕКГ-а, које је обављено прије жртвовања, није забиљежена разлика у фреквенцији између група. Слични резултати су добијени са QT интервалом, највећа промјена, тј. највећа редукција, се десила након прве дозе изопренилина у И и И+Л групи. Прије жртвовања није било разлике у QT интервалу између група. Занимљиво је да је изопренилин изазвао пораст амплитуде QRS мјерен од врха до врха у групама И и И+Л ( $p < 0,001$  у односу на контролу), а да је у право у тим групама прије жртвовања регистрован највећи пад QRS амплитуде ( $p < 0,001$  у односу на контролу). Примјена лираглутида није превенирала изопренилином изазване промјене ЕКГ-а.

Табела 9. ЕКГ параметри: срчана фреквенција, QT интервал и амплитуда QRS код примјене лираглутида у превенцији попуштања срца

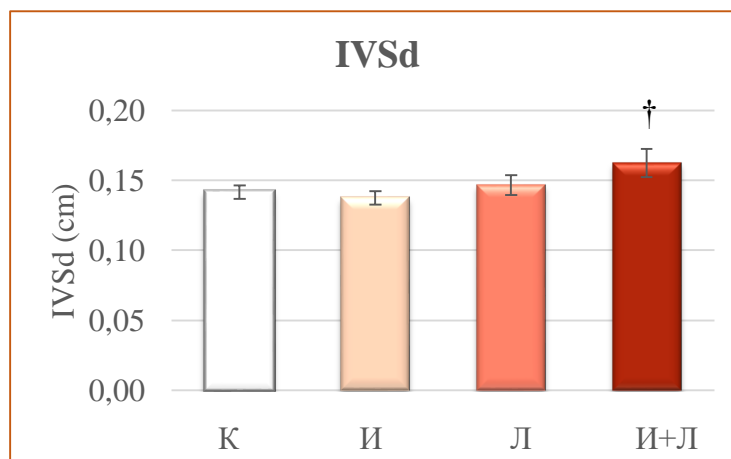
Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	И+Л
Ф 1 (откуцаја/min)	243,22±13,09	436,51±7,94**	245,67±10,75††	439,28±14,87** ‡‡
Ф 2 (откуцаја/min)	240,38±4,30	220,88±6,28	237,64±6,05	226,13±11,90
QT 1 (s)	0,173±0,008	0,089±0,005**	0,167±0,004††	0,094±0,004** ‡‡
QT 2 (s)	0,170±0,010	0,200±0,017	0,173±0,008	0,188±0,010
QRS 1 (mV)	0,280±0,018	0,388±0,043*	0,268±0,009†	0,388±0,044* ‡
QRS 2 (mV)	0,302±0,033	0,204±0,024*	0,290±0,019	0,210±0,027*

Ф 1 – срчана фреквенција након прве дозе изопренилина, QT 1 – QT интервал након прве дозе изопренилина; QRS 1 – QRS од врха до врха након прве дозе изопренилина; Ф 2 – срчана фреквенција прије жртвовања; QT 2 – QT интервал прије жртвовања; QRS 2 – QRS од врха до врха прије жртвовања; К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопренилинска група (изопренилин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопренилин + лираглутид (изопренилин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л; ‡‡ $p < 0,001$  у односу на Л

### 5.2.3 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на ЕХО параметре

Од ултразвучних параметара, анализирани су IVSd, IVSs, LVIDd, LVIDs, PWDd, PWDs, EDV, ESV, SV, EF и FS.

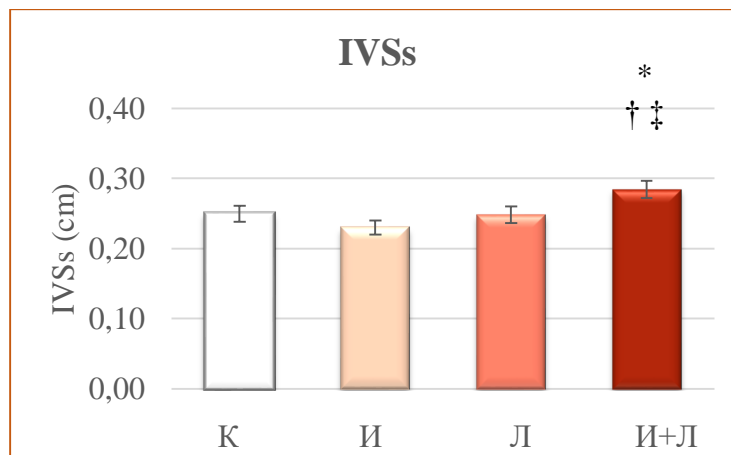
IVSd је редукован код пацова третираних изопреналином (Слика 27), а примјена лираглутида је ублажила ову промјену. Примјена лираглутида повећала је овај дијаметар, нарочито код пацова којима је изопреналином изазвано попуштање срца ( $p < 0,05$  у односу на И).



Слика 27. Дебљина интервентрикуларног септума у дијастоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). † $p < 0,05$  у односу на И

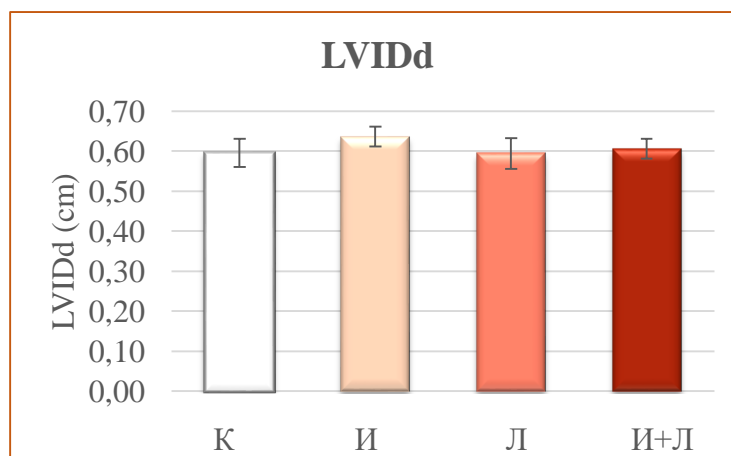
Примјена лираглутида значајно повећава IVSs код пацова којима је изазвано попуштање срца ( $p < 0,05$  у односу на И; Слика 28).



Слика 28. Дебљина интервентрикуларног септума у систоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

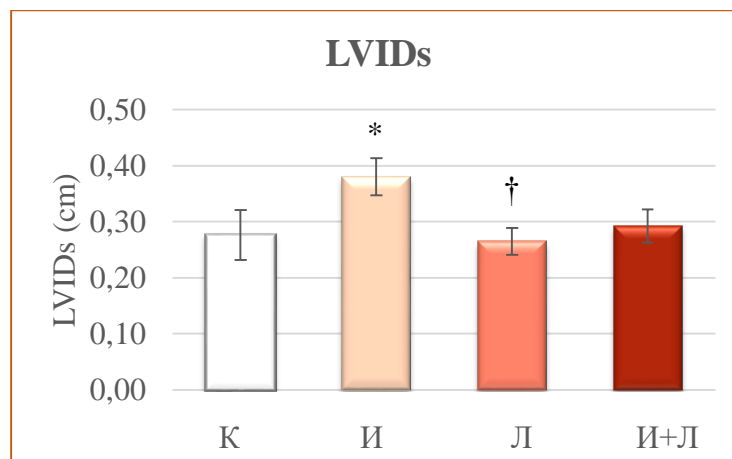
Изопреналин повећава LVIDd, а примјена лираглутида га враћа на вриједности блиске контролним, али без статистичке значајности (Слика 29).



Слика 29. Унутрашњи дијаметар лијеве коморе у дијастоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана)

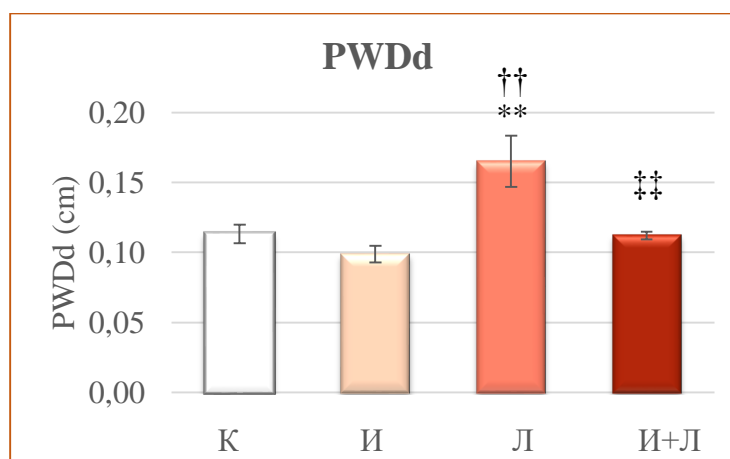
Изопреналински модел попуштања срца доводи до значајног повећања LVIDs ( $p < 0,05$  у односу на К), а примјена лираглутида ублажава ову промјену (Слика 30).



Слика 30. Унутрашњи дијаметар лијеве коморе у систоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

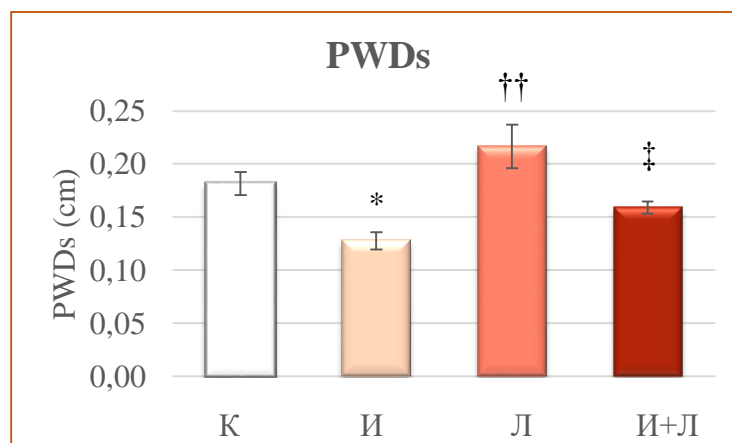
Примјена лираглутида доводи до повећања PWDd у здравом срцу ( $p < 0,001$  Л у односу на К, И и И+Л), али не превенира промјене изазване изопреналином (Слика 31).



Слика 31. Дебљина задњег зида лијеве коморе у дијастоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \*\* $p < 0,001$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И; ‡‡ $p < 0,001$  у односу на Л

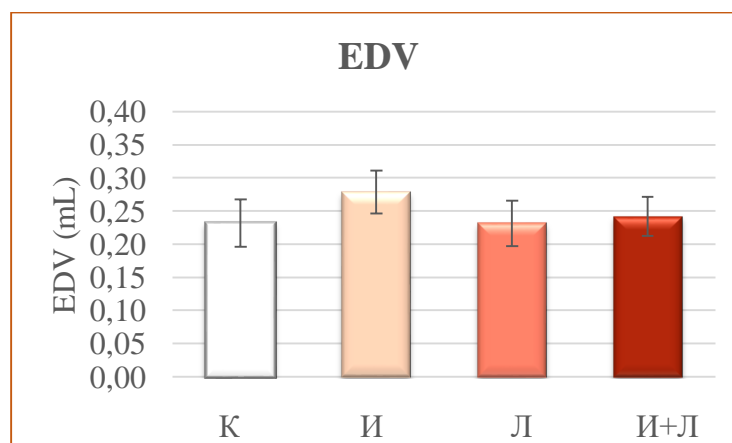
Најнижи PWDs забиљежен је код изопреналином-индукованог попуштања срца ( $p < 0,05$  у односу на К), а примјена лираглутида је побољшала његову вриједност (Слика 32). Најзначајнија промјена у примјени лираглутида десила се на здравом срцу, код којег је PWDs достигао највишу вриједност ( $p < 0,001$  у односу на И).



Слика 32. Дебљина задњег зида лијеве коморе у систоли

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

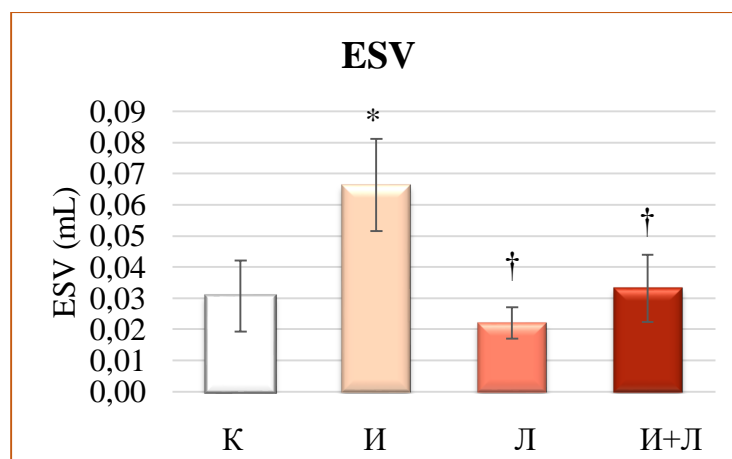
EVD је порастао код пацова којима је изопреналином изазвано попуштање срца, а примјена лираглутида је умањила тај пораст, али без статистичке значајности (Слика 33).



Слика 33. Енд-дијастолни волумен лијеве коморе

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана).

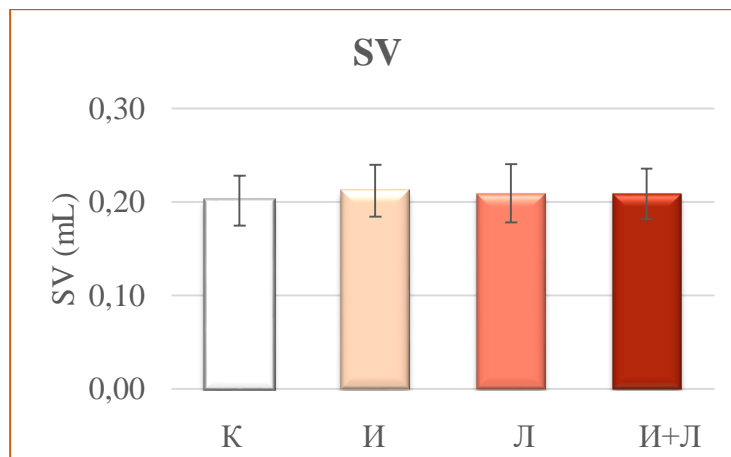
ESV је био највиши у групи пацова третираних изопреналином ( $p < 0,05$  И у односу на К), а седмодневна примјена лираглутида је превенирала тај пораст ( $p < 0,05$  И+Л у односу на И). Примјена лираглутида код здравих пацова изазива смањење ESV указујући на то да је систолна функција код таквих пацова, као и код пацова са попуштањем срца примјеном лираглутидом, побољшана (Слика 34).



Слика 34. Енд-систолни волумен лијеве коморе

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

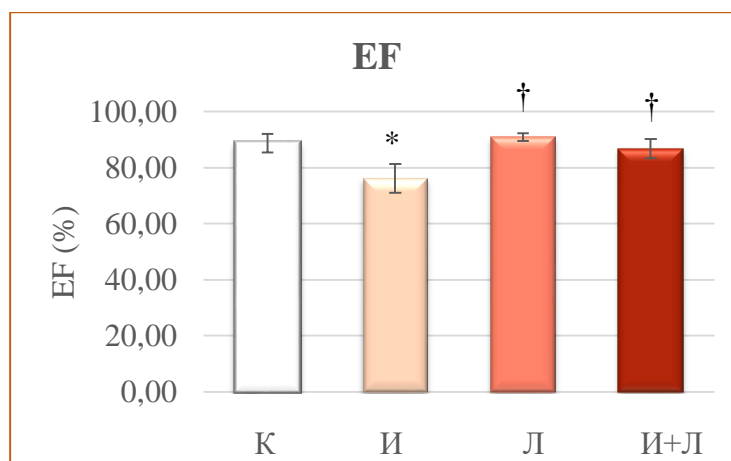
Примјена лираглутида у попуштању срца није изазвала значајне промјене у SV (Слика 35). Није било значајних промјена у ударном волумену између група.



Слика 35. Ударни волумен

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана)

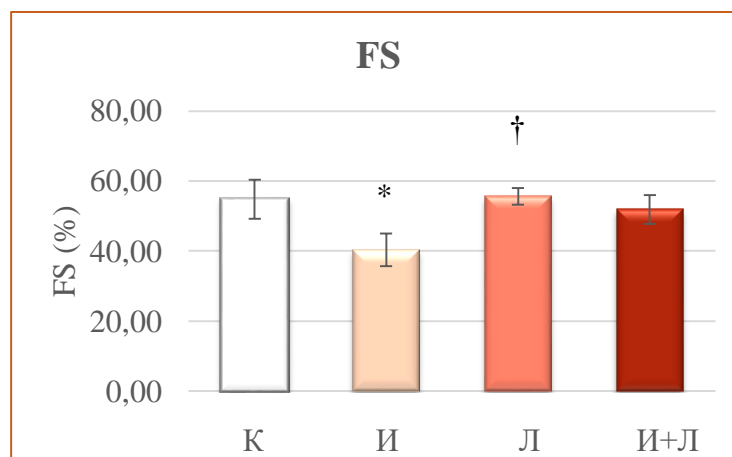
EF је значајно снижена код попуштања срца изазваног изопреналином ( $p < 0,05$  у односу на К) (Слика 36). Примјена лираглутида је превенирала пад ејекционе фракције код срца оштећеног изопреналином ( $p < 0,05$  И+Л у односу на И).



Слика 36. Ејекциона фракција

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

FS је редуковано у групи пацова која је третирана изопреналином ( $p < 0,05$  у односу на К). Третман здравог срца лираглутидом доводи до повећања FS (Слика 37), али је та промјена статистички значајна само у поређењу са И групом ( $p < 0,05$ ).



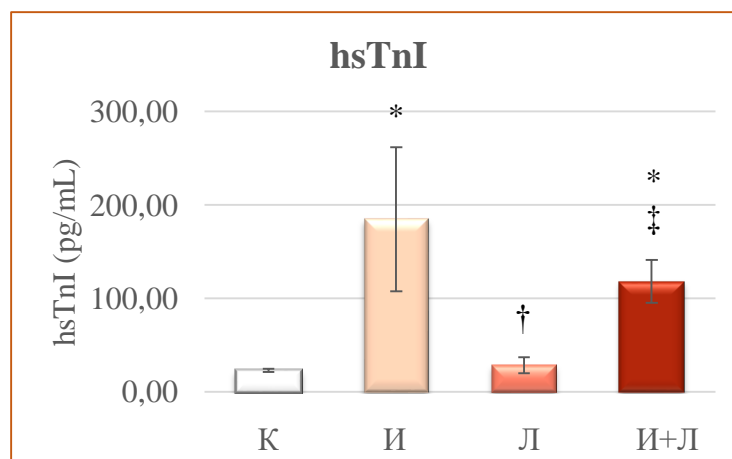
Слика 37. Фракционо скраћење

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И



#### 5.2.4 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на биохемијске параметре и серумске маркере оштећења миокарда

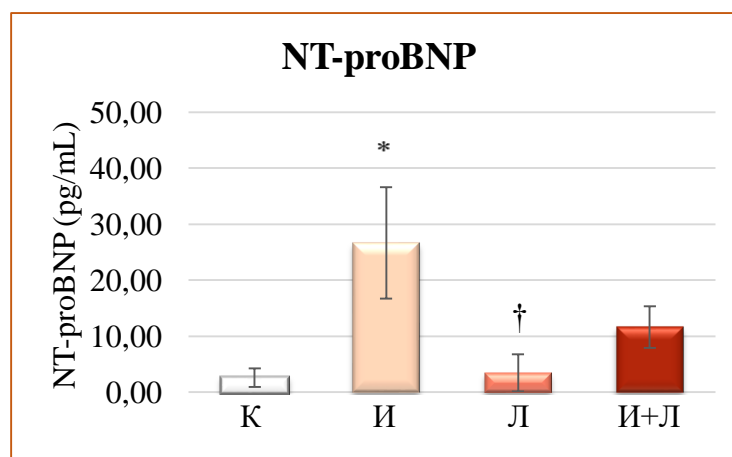
Код пацова третираних изопреналином забиљежен је изразит пораст концентрације hsTnI у плазми, а седмодневна примјена лираглутида је ублажила ову промјену (Слика 38).



Слика 38. Концентрација hs TnI у серуму

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

Други значајан параметар који указује на оштећење миокарда је NT-proBNP, који је највишу концентрацију достигао у групи пацова који су примали изопреналин ( $p < 0,05$  у односу на контролну групу). Лираглутид је ублажио ову промјену, али је није превенирао (Слика 39).



Слика 39. Концентрација NT-proBNP

К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л - лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л - група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

Од мање сензитивних маркера, анализирани су AST, ALT и LDH (Табела 10). Третман лираглутидом је ублажио пораст активности AST и LDH код попуштања срца, али га није превенирао. Оштећење миокарда довело је до пораста активности ALT ( $p < 0,05$  у односу на К). Занимљиво је да је третман лираглутидом довео до пада активности овог ензима код здравих пацова на вриједности које су ниже у односу на контролне.

Примјена лираглутида је снизила концентрацију глукозе (Табела 10), али је хипогликемијски ефекат изопреналина био израженији ( $p < 0,05$  у односу на К).

Табела 10. Утицај примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на серумске биохемијске параметре

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	И+Л
Глукоза (mmol/L)	24,75±3,17	17,07±2,47*	22,38±1,62	19,71±1,33
AST (U/L)	252,00±41,31	363,78±41,80	284,50±36,84	345,50±29,13
ALT (U/L)	110,00±33,85	130,11±7,94*	80,17±12,46†	122,70±10,78‡
LDH (U/L)	1206,00±358,60	1968,67±299,43	1491,00±264,07	1916,80±357,10

AST - аспартат аминотрансфераза; ALT - аланин аминотрансфераза; LDH – лактат дехидрогеназа; К - контролна група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); И - изопреналинска група (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + физиолошки раствор наредних 7 дана); Л – лираглутид група (физиолошки раствор 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана); И+Л – група изопреналин + лираглутид (изопреналин 85 mg/kg 1. и 2. дан + лираглутид 1,8 mg/kg наредних 7 дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

Третман лираглутидом је снизио концентрацију укупног холестерола код здравих пацова ( $p < 0,05$  у односу на К), али је изазвао његов пораст код пацова код којих је изазвано попуштање срца (Табела 11). Занимљиво је што у изопреналинском моделу оштећења миокарда долази до пораста HDL, а седмодневни третман лираглутидом превенира овај пораст. Примјена лираглутида не утиче значајно на концентрацију LDL код попуштања срца, али га снижава код здравих пацова ( $p < 0,05$  у односу на К). Концентрација TG није статистички значајно различита између група. Забиљежена је и снижена концентрација Hcy код попуштања срца изазваног изопреналином у групама И и И+Л ( $p < 0,001$  у односу на К).

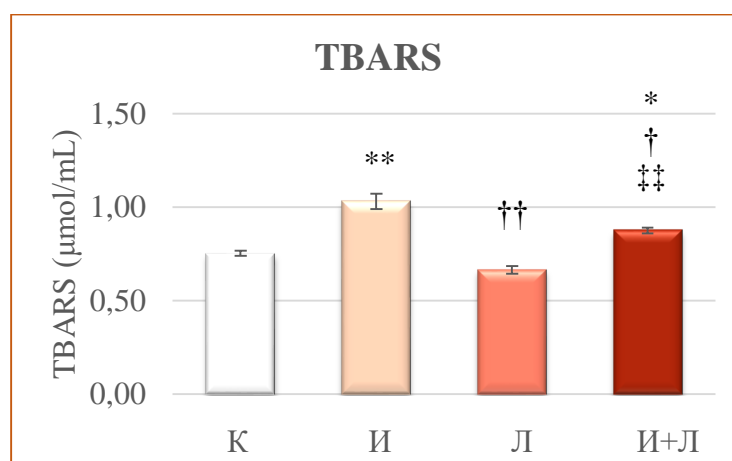
Табела 11. Утицај примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на липидни профил

Параметри	Групе (mean±SE)			
	К	И	Л	И+Л
ТС (mmol/L)	1,02±0,07	1,80±0,23	0,75±0,02* ††	1,13±0,17† ‡
HDL (mmol/L)	0,38±0,03	0,69±0,07*	0,28±0,02††	0,46±0,07† ‡
LDL (mmol/L)	0,16±0,02	0,19±0,03	0,10±0,00* †	0,14±0,02
TG (mmol/L)	0,90±0,17	1,59±0,45	1,68±0,41	1,57±0,19
Hcy (μmol/L)	11,25±0,73	5,09±1,01**	12,72±0,78††	5,16±0,28** ‡‡

ТС – укупни холестерол; HDL – липопротеини велике густине; LDL – липопротеини мале густине; TG – триглицериди; Hcy – хомоцистеин; К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л; ‡‡ $p < 0,001$  у односу на Л

### 5.2.5 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца на маркере оксидативног стреса

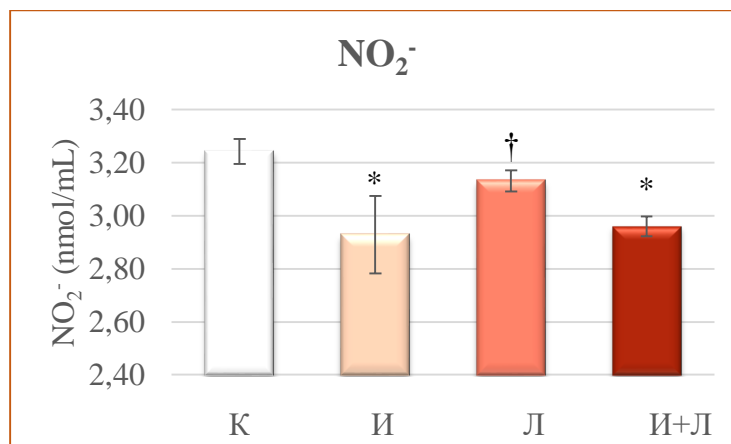
Код попуштања срца изазваног изопреналином дошло је до значајног пораста TBARS (Слика 40), маркера липидне пероксидације. Третман лираглутидом је превенирао липидну пероксидацију ( $p < 0,05$  у односу на И).



Слика 40. Ниво TBARS у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; †† $p < 0,001$  у односу на И; ††† $p < 0,001$  у односу на Л

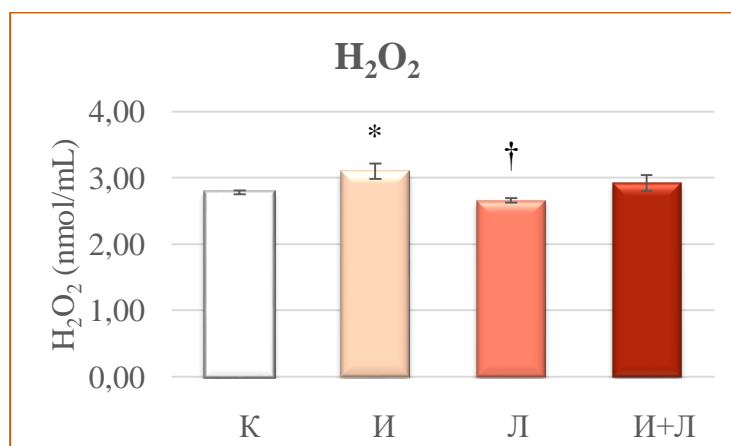
Снижена концентрација  $\text{NO}_2^-$  забиљежена је код изопреналином-изазваног попуштања срца у групама И и И+Л ( $p < 0,05$  у односу на контролу) (Слика 41). Третман лираглутидом није значајно промијенио његову концентрацију.



Слика 41. Концентрација  $\text{NO}_2^-$  у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

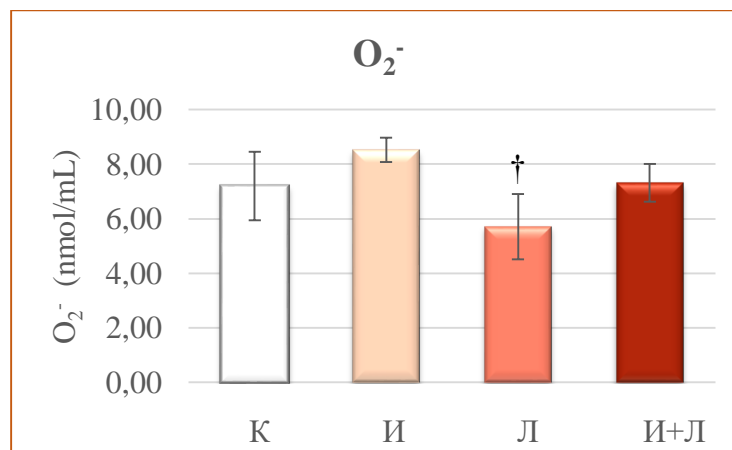
Концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  код попуштања срца изазваног изопреналином је значајно виша у односу на контролу ( $p < 0,05$ ). Антиоксидативни ефекат примјене лираглутида је израженији код здравих пацова у односу на оне који су третираны изопреналином (Слика 42).



Слика 42. Концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И

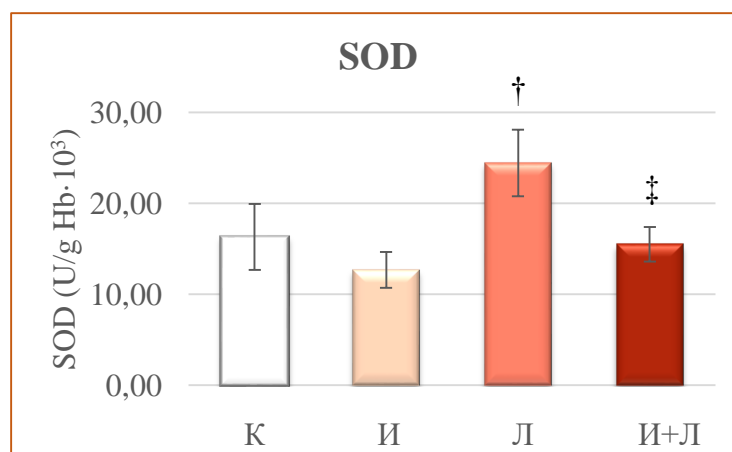
Концентрација  $O_2^-$  је показала сличан тренд као код већ описаних радикала, пораст у И групи, и пад у Л групи (Слика 43). Можемо рећи да је третман лираглутидом ублажио ефекте изопреналина у попуштању срца, али их није превенирао.



Слика 43. Концентрација  $O_2^-$  у плазми

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). † $p < 0,05$  у односу на И

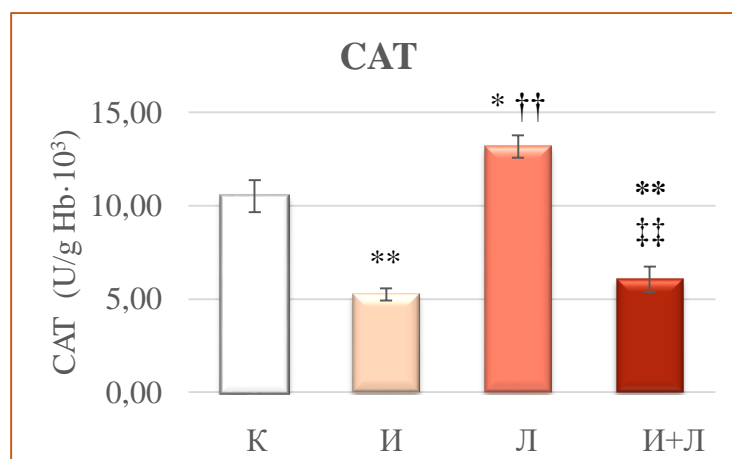
Активност SOD је снижена код пацова код којих се развило попуштање срца, а седмодневни третман лираглутидом је показао изражен антиоксидативни потенцијал лираглутида код здравих пацова. Лираглутид није успио превенирати промјене активности SOD код попуштања срца (Слика 44).



Слика 44. Активност SOD у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

Код попуштања срца активност САТ је изразито снижена у групама И и И+Л ( $p < 0,001$  у односу на К). Третман лираглутидом има бољи антиоксидативни ефекат код здравих пацова ( $p < 0,05$  у односу на К). Третман лираглутидом није остварио свој антиоксидативни потенцијал код попуштања срца изазваног изопреналином (Слика 45).

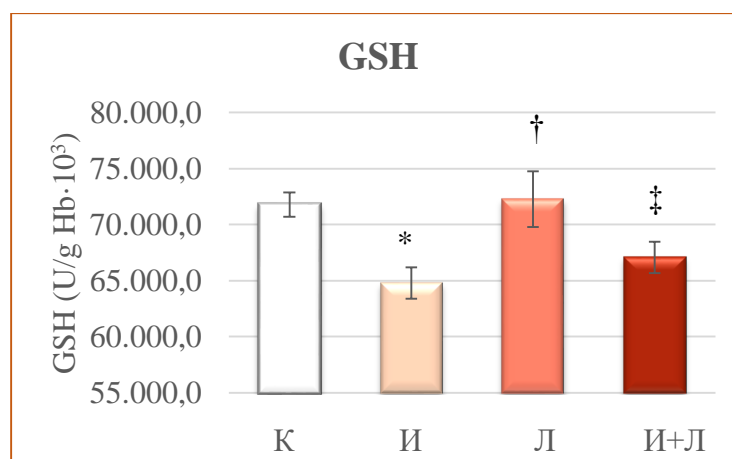


Слика 45. Активност САТ у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; \*\* $p < 0,001$  у односу на К; †† $p < 0,001$  у односу на И; ††† $p < 0,001$  у односу на Л



Изопреналин је још једном показао да изазива оксидативни стрес, јер осим што узрокује редукацију активности SOD и CAT, он узрокује и пад концентрације GSH ( $p < 0,05$  у односу на К) (Слика 46). Као и претходно описани ензими, и неензимска компонента антиоксидативне заштите, GSH, има повољнији ефекат када дјелује на здраво срце, у односу на срце које је претрпјело оштећење, дакле, само је дјелимично превенриао промјене које су се десила код попуштања срца.



Слика 46. Ниво GSH у лизату еритроцита

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана). \* $p < 0,05$  у односу на К; † $p < 0,05$  у односу на И; ‡ $p < 0,05$  у односу на Л

### 5.2.6 Ефекти примјене лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопренилином на патохистолошке карактеристике миокарда

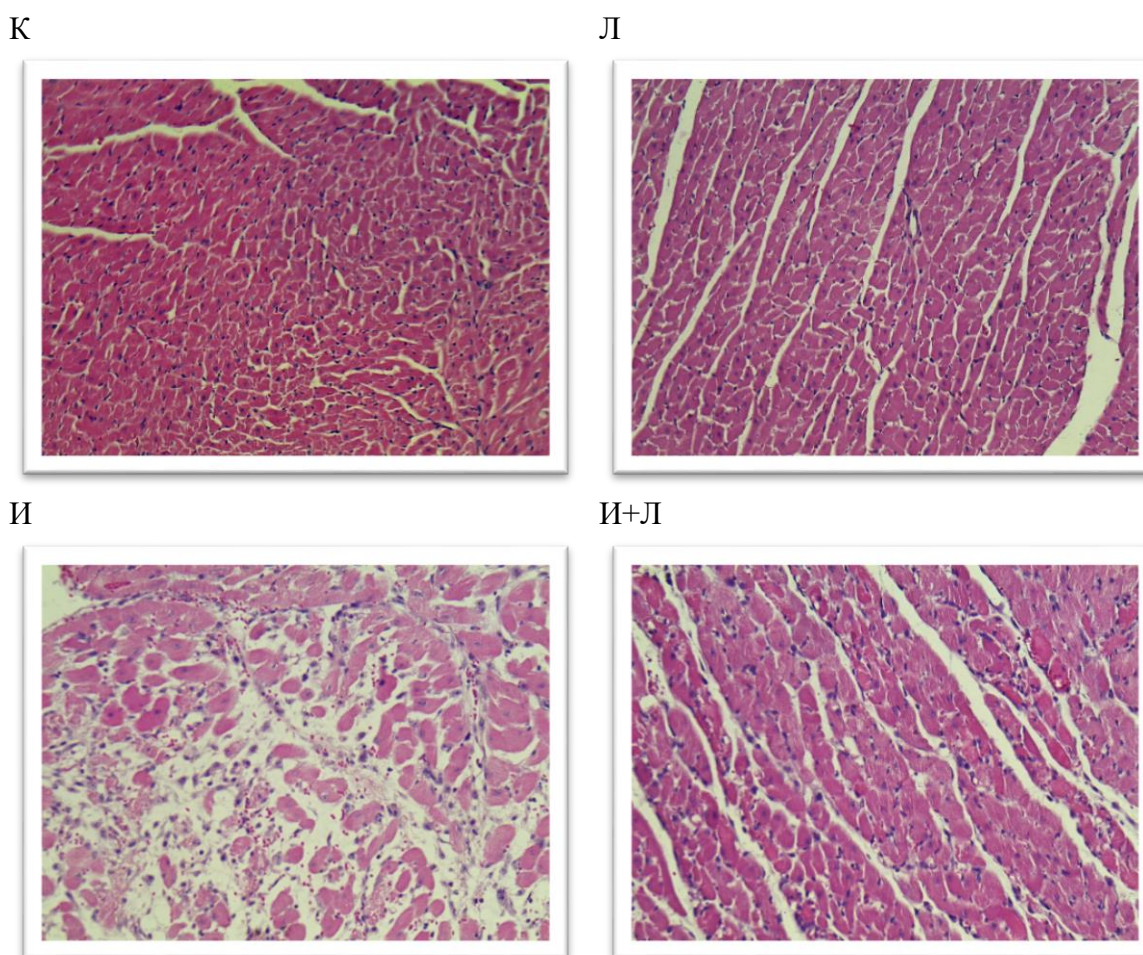
Патохистолошка анализа је показала повољне ефекте примјене лираглутида код попуштања срца изазваног изопренилином. Патохистолошки скор је показао да је највеће оштећење миокарда у групи пацова са попуштањем срца (Слика 47).



Слика 47. Просјечан патохистолошки скор миокарда

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопренилинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопренилин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л - лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л+И - група лираглутид + изопренилин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопренилин 85 mg/kg 9. и 10. дана).

Хистолошки препарат миокарда контролне групе пацова (Слика 48) приказује нормалне хистолошке карактеристике (скор 1). Примјена лираглутида код здравих пацова не нарушава физиолошке карактеристике миокарда (Слика 44), морфологија ткива остаје очувана (скор 1). У групи пацова код које је изазвано попуштање срца, срчано ткиво показује оштећене кардиомиоците, едем између њих, накупине еритроцита, знаке крварења, те инфилтацију неутрофила и макрофага што указује на инфламацију (скор 4). Оштећење миокарда код попуштања срца изазваног изопреналином ублажава примјена лираглутида, те се могу наћи знаци благе инфламације и дискретно фокално оштећење (скор 2).



Слика 48. Хистолошки препарат миокарда (Н&Е бојење)

К - контролна група (физиолошки раствор 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); Л – лираглутид група (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и физиолошки раствор 9. и 10. дана); И - изопреналинска група (физиолошки раствор 10 дана, а изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана); Л+И – група лираглутид + изопреналин (лираглутид 1,8 mg/kg током 10 дана и изопреналин 85 mg/kg 9. и 10. дана).

## 6 ДИСКУСИЈА

Проведена студија показала је повољне ефекте примјене лираглутида код оштећења миокарда узрокованог изопреналином. Лираглутид примијењен сам и у превенцији акутног оштећења миокарда и у превенцији попуштања срца смањио је ТМ за око 17% у поређењу са контролном групом, али изопреналин сам, такође, може да смањи ТМ (140). Изражен губитак ТМ примијењен је код пацова који су примали и лираглутид и изопреналин: у превенцији акутног оштећења миокарда ТМ била је за 23,5% мања, а у превенцији попуштања срца за 26,9% у односу на контролну групу. Примијењено је да је редукција ТМ у групама које су примале изопреналин и лираглутид била израженија код попуштања срца. Дакле, можемо да закључимо да је губитак ТМ значајнији код примјене лираглутида у превенцији попуштања срца. Године 2010. FDA је одобрила лираглутид као допунску терапију за Т2ДМ. Поред хипогликемијских ефеката, овај лијек има благотворно дејство и на губитак телесне масе. Анализа неколико клиничких испитивања показала је да је третман лираглутидом проузроковао губитак тјелесне масе више од 5 kg код 50% до 80% лијечених пацијената. Процент пацијената који су изгубили на маси и проценат губитка телесне масе зависе од дозе лираглутида и трајања испитивања (141). У нашој студији дозирање лираглутида је било исто и у превенцији акутног оштећења миокарда и у превенцији попуштања срца, али је кључно било да је ли је он примијењен у превенцији акутног оштећења миокарда или превенцији попуштања срца. Губитак тјелесне масе може се објаснити чињеницом да лираглутид има рецепторе не само у дигестивном систему, већ и у централном нервном систему, и може изазвати повећање осећаја пуноће у стомаку и смањење осјећаја глади директном стимулацијом неурона про-опиомеланокортина (POMC) који инхибирају апетит и неурона који луче агоутију-сличне пептиде (AgRP) у *nucleus arcuatus*-у (142).

Резултати ове студије показали су повећање СМ и ИСМ у групи која је третирана изопреналином, што указује на то да је изопреналин изазвао повећање масе срца, односно његову хипертрофију. Истраживања су показала да изопреналин може имати такве ефекте, али да то зависи од дозирања и трајања примјене изопреналина (143). ИСМ се такође може користити као индикатор хипертрофије срца (123).

У овој студији, примјена лираглутида у превенцији и акутног оштећења миокарда и попуштања срца је смањила СМ и ИСМ, те спријечила повећање (хипертрофију) срца изазвано изопренилином.

Анализиране су ЕКГ промјене изазване изопренилином, као што су срчана фреквенција, QT интервал и QRS амплитуда у mV мјерена од врха до врха. Прво ЕКГ снимање и код акутног оштећења миокарда и код попуштања срца није показало значајне промјене између експерименталних група. Друго снимање ЕКГ-а, које је урађено 10 минута након прве дозе изопренилина, код пацова третираних изопренилином показало је присуство негативних Т таласа, значајно повећање срчане фреквенције и амплитуде QRS комплекса, и смањење QT интервала. Лираглутид примјен у превенцији акутног оштећења миокарда снизио је фреквенцију срца код пацова третираних изопренилином, док то није био случај са лираглутидом примјеним код попуштања срца. Разлог за то је што су на почетку експеримента примјене лираглутида у превенцији попуштања срца свим пацовима који су примали изопренилин, снимање је обављено у истим условима. У том тренутку када је ЕКГ снимање обављено, групе И и И+Л се међусобно нису разликовале јер су обе примале само изопренилин. Постоји неслагање у доступним подацима у вези са ЕКГ промјенама на животињским моделима оштећења миокарда. Познато је да изопренилин изазива ST депресију и негативан Т талас, али Јаин сарадници (144) су регистровали елевацију ST сегмента код оштећења миокарда изазваног изопренилином. ST сегмент на ЕКГ запису забиљеженом снимањем пацова, веома је тешко анализирати јер се Т талас подиже директно са S зупца (145). Истраживања показују да оштећење миокарда изазвано изопренилином може дати различите ефекте на фреквенцију срца, од непромијењене (140), преко смањене (146), до повећане (147), у зависности од дозе, трајања третмана изопренилином и режима примјене. Сличан случај је и са QT интервалом, он може бити непромењен, продужен или скраћен (140,144,145). Занимљиво је да изопренилин изазива акутно повећање QRS амплитуде, што је забиљежено у експерименталним моделима оштећења миокарда ове и других студија. Почевши од 2. дана након примјене друге дозе изопренилина, па све до 8. дана, биљежене су ниже QRS амплитуде у односу на контролне вриједности. Дакле, код примјене лираглутида у акутном оштећењу миокарда регистроване су ниже амплитуде QRS комплекса при трећем снимању ЕКГ-а.

Код примјене лираглутида у акутном оштећењу миокарда та редукција вриједности QRS амплитуде била је израженија. У моделу кардиомиопатије изазване доксорубицином, овај агенс доводи до смањења амплитуда QRS комплекса, а третман лираглутидом ублажава ову промјену (122). У овој студији, лираглутид није спријечио промјене у срчаној фреквенцији, QT интервалу и QRS амплитуди 24 сата након друге дозе изопренилина, али је промијенио негативни Т талас изазван изопренилином у позитиван, што сугерише да примјена лираглутида у акутном оштећењу миокарда изазваним изопренилином може дјеловати превентивно.

Ехокардиографија је урађена само код експерименталних животиња код којих је лираглутид примијењен у превенцији попуштања срца. Код животиња које су лираглутид примале у акутном оштећењу миокарда испољени су само акутни ефекти изопренилина, јер је жртвовање обављено 24 сата након апликације друге дозе изопренилина. Тада није очекивана значајна промјена у структури и динамици рада срца. У третману лираглутидом код попуштања срца, ЕХО је анализиран 8. дана, када је очекивано да дође до формирања гранулационог ткива и структурних, па и функционалних промјена у срцу (75). Знаци ремоделовања код оштећења миокарда изазваног изопренилином могу се представити кроз повећану срчану масу и површину фиброзе (148,149), повећан пречник лијеве коморе (150), повећану депозицију колагена и фиброзу (149,151–154). Детектована је повећана маса срца у третману лираглутидом, као и повећан пречник лијеве коморе. Параметри који су праћени ехокардиографијом су показали да је код попуштања срца изазваног изопренилином дебљина интервентрикуларног септума дискретно смањена и у систоли и у дијастоли, унутрашњи пречник лијеве коморе значајно повећан у систоли, дебљина задњег зида лијеве коморе смањена у систоли и дијастоли, енд-сistolни волумен повећан, ејекциона фракција и фракционо скраћење редуковани. Ли и сарадници (155) су након 7 дана апликације изопренилина, али у знатној мањој кумулативној дози добили повећање IVSd, IVSs, PWDs, PWDd, EF и FS у односу на контролну групу. Друга студија је показала да код пацова третираних изопренилином током четрнаест дана у мањим дозама, долази до смањења ејекционе фракције и фракционог скраћења, повећања енд-дијастолног волумена и унутрашњег пречника лијеве коморе (156). Ефекти изопренилина на хемодинамске параметре регистроване ЕХО-ом зависе од дужине излагања изопренилину и начина апликације.

Иако се сматра да изопреналин има позитивно инотропно дјеловање (157), резултати неких студија су показали да он може имати и негативне инотропне ефекте (158,159). Примјена лираглутида у превенцији попуштања срца ублажава промјене IVSd, IVSs, PWDs, PWDd, LVIDs, и превенира промјене ESV и EF. Истраживања су показала да лираглутид има позитивно хронотропно дјеловање, али да је оно дозно-зависно (160).

У експерименталним студијама регистровани су хипогликемијски ефекти изопреналина (156). Лираглутид може смањити ниво глукозе смањењем глукагона, повећањем лучења инсулина и успоравањем пражњења желуца (119). Наши резултати су показали да је сам лираглутид имао очекиване хипогликемијске ефекте, али и да је примјена изопреналина у комбинацији са лираглутидом и у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца изазвала овакве ефекте, али они нису више изражени од самог изопреналина. Однос глукозе и катехоламина је је привукао пажњу код пацијената са Такоцубо синдромом. Овај синдром се још назива и „стресом индукована кардиомиопатија“, а сматра се да настаје због повећане количине катехоламина. Анимални модели који опонашају овај синдром се индукују примјеном изопреналина. Примјећено је да пацијенти са овим синдромом имају мању преваленцију дијабетес мелитуса (*diabetes mellitus*). То је био мотив за *in vitro* студију у којој су кориштене хумане плурипотентне ћелије које производе кардиомиоците. Резултати ове студије су показали да постоји комплексна веза између изопреналина и концентрације глукозе, и да она зависи од дужине трајања изложености  $\beta 1$  рецептора изопреналину (161).

Најважнији срчани протеини који се користе у дијагностици акутног инфаркта миокарда су тропонини: TnC, TnI and TnT (162). TnC и TnI су познати као срчани протеини јер се они налазе у срчаном мишићу. Срчани протеини се синтетишу у срчаном мишићу и отпуштају из њега. Они ступају у реакцију са тропомиозином и формирају главну структуру пругастог срчаног мишића (163). Данас постоје тестови високе сензитивности којима се мјере врло мале количине тропонина изражене у ng/mL, тзв. високо сензитивни тропонин (hsTn) (164). HsTnI се сматра веома осетљивим маркером оштећења миокарда. Заправо, оштећењем или повредом миокарда се сматра свако повећање срчаног тропонина изнад 99-те перцентиле горње референтне границе (165).

Референтне вриједности hsTnI код пацова нису дефинисане, али је доказано да је његова концентрација значајно повећана у моделу оштећења миокарда изазваног изопреналином (166,167). Проведено истраживање показало је изузетно повећање hsTnI код пацова третираних изопреналином. У акутном оштећењу миокарда је концентрација овог срчаног тропонина код пацова третираних изопреналином била знатно виша у односу на концентрацију у срчаном попуштању, дакле, акутни ефекат изопреналина на вриједност hsTnI је израженији, док је одложени ефекат блажи, али и даље говори у прилог оштећења миокарда. Лираглутид је, и у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца, ублажио ефекте изопреналина на концентрацију hsTnI.

У индикаторе оштећења миокарда спадају и NT-proBNP и BNP. Прекурсор можданог натриуретског пептида (proBNP) се цијепа на BNP (активну компоненту) и NT-proBNP (неактивну компоненту) чије се концентрације могу мјерити у крви. BNP и NT-proBNP су високо сензитивни и специфични индикатори оштећења миокарда и прогностички маркери тежине исхемијске болести код пацијената са акутним коронарним синдромом. NT-proBNP, иако биолошки неактиван, стабилнији је од BNP, па га је лакше одредити у серуму (23). Оштећење миокарда повезано је са повишеном концентрацијом BNP, што је одраз тежине дисфункције лијеве коморе. Истраживања показују да се са сваким повећањем BNP-а од 100 pg/mL повећава ризик релативног морталитета за 35% (25). NT-proBNP настаје као одговор на претјерано истезање или превелики притисак у десној преткомори, али и у лијевој комори (24). Иако се лучи у истом омјеру као и BNP, често му се даје предност у истраживањима због његовог дужег полуживота (25). Експерименталне студије су показале да његова концентрација расте у изопреналином индукованом оштећењу срца (168,169), али и другим моделима оштећења миокарда (122,123). Резултати проведене студије су потврдили пораст нивоа NT-proBNP код пацова третираних изопреналином. Примјена лираглутида у превенцији попуштања срца изазваног изопреналином довела је до снижавања његове концентрације, што су показале и друге студије (122,123,170,171).



Историјски гледано, за дијагнозу акутног инфаркта миокарда прво су кориштени ензими AST и LDH (163). Употреба AST у дијагнози акутног инфаркта миокарда предложена је још 1954. године, када је показано да се AST ослобађа из некротичних кардиомиоцита у циркулацију, што може бити корисно при постављању дијагнозе акутног инфаркта миокарда. AST јесте први ензим кориштен при постављању дијагнозе, али он није специфичан (163). LDH има у многим органима, укључујући скелетне мишиће, бубреге, мозак, јетру, срце, плућа и еритроците. Она има 5 изоензима. У срцу се налази LDH1, али она није високо специфична за срце. Њена концентрација се повећава унутар 6-13 сати од настанка боли у грудима, има свој пик током 1-3 дана и враћа се у нормалне границе унутар 8-14 дана. Однос LDH1: LDH2 > 1 је специфичан за акутни инфаркт миокарда (163). ALT је један од јетриних ензима који је повезан са повећаним ризиком од кардиоваскуларних догађаја. Новија литература показује везу јетриних ензима са тежином стенозе у акутном инфаркту миокарда (172). Активности ензима AST, ALT и LDH, такође, се сматрају маркерима оштећења миокарда (166). Изопренилином индуковано повећање AST, ALT и LDH карактеристично је за овај модел оштећења миокарда (144,147,166,173). Резултати примјене лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца показали су смањење активности ових ензима, што сугерише да лираглутид ублажава промјене у њиховој активности изазване изопренилином.

Липидни профил је анализиран кроз ниво TC, HDL, LDL и TG. Пацови третирани изопренилином су показали повећане нивое TC, LDL и TG у акутном оштећењу миокарда и срчаном попуштању. Ови резултати су у складу са резултатима Панда и сарадници (166), са изузетком повећане концентрације HDL која је добијена у проведеној студији. Слично повећање HDL изазвано изопренилином регистровани су Мерт и сарадници (174). Могући разлог повећања концентрације HDL може се објаснити адренергичком стимулацијом бета рецептора изопренилином (175,176). Када се анализира акутно оштећење миокарда и попуштање срца, концентрације TC и TG су биле више у изопренилинској групи пацова који су били укључени у превенцију акутног оштећења миокарда у односу на оне у превенцији попуштања срца. То значи да изопренилин узрокује мање оштећење липидног профила примијењен акутно, док у одложеном периоду изазива веће оштећење, што нам показује анализа ових параметара који су мјерени 8. дана од примјене изопренилина.

У проведеној студији, лираглутид је спријечио оштећење липидног профила узрокованог изопреналином. Познато је да лираглутид смањује постпрандијалну хиперлипидемију и постпрандијални ниво TG, вјероватно редукцијом производње и повећањем катаболизма аполипопротеина В48 (АpoВ48) (119,177).

Хомоцистеин (*homocysteine, Hcy*) настаје интрацелуларном трансметилацијом у којој се метил група преноси са метил донора S-аденозил метионина (*S-adenosyl methionine, SAM*) на метил акцептор. Овом реакцијом настаје S-аденозил хомоцистеин (*S-adenosyl homocysteine, SAH*) који се хидролизује у аденозин и хомоцистеин у реверзибилној реакцији. У циркулацији, хомоцистеин пролази кроз реакције дисулфидне размјене, при чему настају симетрични и мјешовити дисулфиди, који заједно представљају укупни хомоцистеин (*total homocysteine, tHcy*). Повишене вриједности tHcy у плазми су повезане са повећаним ризиком од кардиоваскуларних болести (178). Хомоцистеин представља фактор ризика за атеросклерозу и кардиоваскуларне болести (179). Хиперхомоцистеинемија може да оштети ендотел крвних судова и на тај начин учествује у патофизиологији кардиоваскуларних болести (180,181). Лираглутид може да смањи пролиферацију и миграцију васкуларних глатких мишићних ћелија изложених хомоцистеину, супресијом пута у којем се пропротеин конвертазе субтилизин/кексин тип 9 веже са рецепторима липопротеина ниске густине (PCSK9/LDLR). Повећана концентрација хомоцистеина је такође укључена у оксидативни стрес, пошто хомоцистеин у великој количини може да стимулише производњу ROS и RNS (182). Резултати проведене студије показали су да изопреналин код акутног оштећења миокарда изазива повећање хомоцистеина, а да лираглутид превенира ово повећање код пацова третираних изопреналином. У срчаном попуштању, изопреналин смањује концентрацију хомоцистеина. Та разлика би се могла објаснити тиме што је у акутном оштећењу миокарда измјерена концентрација хомоцистеина посљедица акутног ефекта изопреналина, док у срчаном попуштању измјерена концентрација посљедица одложеног дјеловања изопреналина, јер је хомоцистеин у том случају измјерен 8. дана након апликације изопреналина. На тај начин отвора се могућност да је за то вијеме могло доћи до метаболисања хомоцистеина.

У условима оксидативног стреса и хиперхомоцистеинемije (која може пратити оксидативни стрес) долази до промјена у метаболизму хомоцистеина. Тада хомоцистеин даје тиолактоне, те доводи до хомоцистеинилације протеина, па је могуће да се он на тај начин метаболише, па се смањује његова концентрација у облицима које је могуће регистровати. Друга могућност је да се метаболизам хомоцистеин у условима оксидативног стреса усмјерава у правцу синтезе редукованог глутатиона, те да се тако хомоцистеин „потроши“, али постоји и могућност да се он излучи урином што што утиче на његову концентрацију у серуму (179,183,184).

Срце показује изузетну способност прилагођавања на физиолошке и патолошке промјене како би одржало своју контрактилност. Срчана дисфункција ће настати када срчани компензаторни механизми, који се активирају као одговор на специфичну промјену, више нису довољни. У условима оксидативног стреса ћелије ће реаговати активирањем одређеног сигналног пута који омогућава опстанак срчаног ткива и срчане функције. Ако ћелијска стратегија прилагођавања на новонасталу ситуацију не постигне свој циљ, то ће активирати сигнални пут ћелијске смрти. Главни пут ћелијске смрти је апоптоза, која укључује ослобађање цитохрома Ц (CytC) из митохондрија, који се везује за протеин назван фактор 1 активације апоптотичке протеазе (*apoptotic protease activating factor 1; Apaf-1*) и стимулише његову олигомеризацију, што доводи до програмиране ћелијске смрти. Протеини топлотног шока (*heat shock proteins - Hsp*), који се јављају у условима ниског стреса, показују инхибицију проапоптотичког пута. Такву способност има Hsp27, који се везује за цитохром CytC и спречава његово везивање за Apaf-1. Слично дјелује и Hsp90, док Hsp70 спречава олигомеризацију Apaf-1 и регрутовање прокаптазе-9, чиме се смањује кардиопротекција (100). Експерименталне студије су показале да прекомјерна експресија срчаног специфичног Hsp70, пружа кардиопротекцију од исхемијско-реперфузионе повреде миокарда (185,186). Митохондрије се сматрају средиштем ћелијских редокс процеса, тако да је њихова улога у оксидативном стресу значајна. Неколико митохондријских стресних сигнала учествује у ћелијској комуникацији и стимулише ћелијску адаптацију на егзогене или ендogene стимулусе. Оксидативни стрес у митохондријама иницира ослобађање стресних сигнала који ће довести до деполаризације, промјене нивоа аденин нуклеотида, производње ROS, транспорта Ca<sup>2+</sup> и промјене пермеабилности ћелијске мембране (187).

Када се оксидативна фосфорилација у митохондријима промијени, повећава се производња ROS. Овај процес не само да смањује ћелијски енергетски процес (смањење производње АТФ-а), већ и повећава тенденцију стварања ROS. Сви ови хомеостатски механизми су кључни за опоравак кардиомиоцита током оштећења миокарда (100).

Једна од механизма оштећења миокарда изазваног изопреналином је оксидативни стрес, о чему свједочи пораст маркера липидне пероксидације, малондиалдехида (MDA) или TBARS-а (166,173). Експериментални модели оштећења миокарда индуковани изопреналином показују значајни пораст MDA, указујући да је оксидативни стрес један од механизма оштећења миокарда код пацова третираних изопреналином. Појава липидне пероксидације у изопреналинском моделу оштећења миокарда је документована повећаном концентрацијом TBARS (88,148–151,188–191). Резултати ове студије показали су да примјена лираглутида у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца снижава концентрацију TBARS, те да лираглутид показује антиоксидативни потенцијал и на здравим експерименталним животињама. Што је још важније, лираглутид и у акутном оштећењу миокарда и у срчаном попуштању превенира повећање TBARS, показујући тако снажни антиоксидативни ефекат.

Анализирани су и други прооксидативни маркери. Већ је описано да се прооксиданси могу подијелити у ROS и RNS. Од ROS, праћени су  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ , а од RNS праћен је  $\text{NO}_2$ . Резултати су показали повећање концентрација  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$  у оштећењу миокарда изазваним изопреналином, што сугерише да је изопреналин изазвао значајан ниво оксидативног стреса. Међутим, концентрација  $\text{NO}_2^-$  је снижена. Ранковић и сарадници (137) су добили сличне резултате код оштећења миокарда изазваног доксорубицином, уз повећање ROS и смањење RNS. С друге стране, неколико студија је показало повећање нитрита код пацова третираних изопреналином (192,193). Ова недоследност се може објаснити разликама у експерименталним протоколима и типом анализираних узорака (тјелесна ткива или крвни деривати). У овој студији, лираглутид примијењен код акутног оштећења миокарда и код попуштања срца ублажио је повећање  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$ , као и смањење  $\text{NO}_2^-$  код изопреналином третираних пацова. Занимљиво је да лираглутид показује значајан антиоксидативни потенцијал у здравом организму, јер су забиљежене вриједности  $\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{O}_2^-$  ниже од контролних.

Код експерименталних животиња којима је изазвано оштећење миокарда, повећано је стварање ROS, а долази и до дилатације лијеве коморе, контрактилне дисфункције и ремоделовања лијеве коморе. Поред повећања оксидативног стреса, оштећење и инсуфицијенција срца се карактеришу исцрпљивањем урођеног антиоксидативног одбрамбеног механизма. У кардиомиоцитима, као и у већини ћелија, главне ендogene компоненте антиоксидативног одбрамбеног механизма су SOD, CAT, GPx, NAD<sup>+</sup> и GSH. Каталаза има главну улогу у првој линији ензимске антиоксидативне одбране. То је тетрамерни ензим, који се састоји од четири идентичне компоненте. Каталаза реагује у пероксизомима са водоник пероксидом (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) при чему настају вода и молекуарни кисеоник (194). SOD се користи за евалуацију способности елиминације слободних кисеоничних радикала. У организму постоји велика количина SOD која може да елиминише слободне радикале и има важну улогу у заштити организма од оштећења реактивним кисеоничним врстама (195). Глутатион је хидросолубилни трипептид са потентном активношћу сакупљања оксиданаса и представља супстрат неопходан за активност GPx, ензима који има значајну улогу у спречавању потенцијално штетних ефеката H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Смањена количина глутатиона може имати кључну улогу у промовисању оштећења кардиомиоцита и ендотелних ћелија. Смањена количина GSH је нађена у току исхемије и реперфузије исхемичног миокарда (196). Неколико студија је забиљежило значајно смањење активности SOD, CAT и GPx у анималним моделима срчане инсуфицијенције (54–56). Мишеви који су имали оштећење срца уз снижену активност SOD или GPx, имали су лошији исход у поређењу са њиховом контролом (57–61). Оксидовани облик NAD<sup>+</sup> заједно са редукованим, NADH, су кључни у покретању оксидационо-редукционих реакција које су одговорне за производњу енергије (50). Осим улоге у регулацији ћелијског енергетског метаболизма, NAD<sup>+</sup> представља прекурсор за фосфорилисани нуклеотидни пар NADP<sup>+</sup>/NADPH који има главну улогу у детоксикацији ROS. Снижен ниво миокардног NAD<sup>+</sup> пронађен је у неколико анималних модела срчане инсуфицијенције. Студије показују да је активност Nmnat, ензима који је одговоран за производњу NAD<sup>+</sup>, значајно снижена у анималним моделима срчане инсуфицијенције, али и код пацијената (62). Ово запажање указује да се смањење NAD<sup>+</sup> јавља и код људи. GSH, као и NAD<sup>+</sup> је један од главних антиоксиданата ћелија сисара који сакупља слободне радикале и елиминише производе липидне пероксидације.

Код животиња, након оштећења миокарда, смањена је количина укупног GSH (63,64). Антиоксидативна улога SOD у моделу изопренилинског оштећења миокарда, се огледа у сниженој активности овог ензима јер се он користи за елиминацију ROS (88,149–152,189–191,197–200). Трансгенска експресија CAT у пероксизомима и митохондријама показује повољне ефекте на структуру и функцију миокарда у моделима оштећења миокарда и срчане инсуфицијенције (68,70). У оштећењу миокарда изазваном изопренилином, активност CAT је редукована јер овај ензим уклања ROS (88,188,189,191,198–200). Редуковани глутатион је неензимски антиоксиданс у срцу, који има значајну улогу у заштити миокарда током исхемијско-реперфузијске повреде (201). Он своју антиоксидативну улогу остварује као кофактор ензима глутатион трансферазе и као чистач слободних радикала (202). GSH је неопходан за активност GPx, тако да његов недостатак узрокује смањену активност овог ензима. Количина GSH се може обновити *de novo* синтезом или редукцијом оксидованог облика глутатиона, GSSG, глутатион редуктазом. Хронични недостатак GSH нарушава функцију лијеве коморе и подстиче фиброзу (203). Однос GSH/GSSG се смањује у оксидативном стресу, тако да он може бити маркер оксидативног стреса (54). Овај однос је маркер интрацелуларног оксидативног стреса, за разлику од производа липидне пероксидације, која је маркер и интрацелуларног и екстрацелуларног оксидативног стреса. Постоји још неколико механизма који су укључени у антиоксидативну заштиту, а један од њих је и металотионеин, који директно уклања ROS у оксидативном стресу. Он смањује митохондријски оксидативни стрес, смањује апоптозу у миокарду и спречава развој дијабетичне кардиомиопатије (66,204). Тиоредоксин (*thioredoxin* - *Trx*) систем укључује Trx редуктазу, тиоредоксин, пероксиредоксин и NDPH. Ниво Trx повећан је у крви и миокарду код срчане инсуфицијенције (205,206). Овај систем чисти ROS директно или активацијом хем оксигеназе-1 (*heme oxygenase-1*; *HO-1*) и Б-ћелијског лимфома 2 (*B cellular lymphoma-2*; *Bcl-2*) (207). Глутаредоксин (*glutaredoxin* - *Grx*) има сличну функцију као Trx систем, али је селективнији за тиоле цистеина. Пероксиредоксини (*peroxiredoxin* - *Prx*) су ензими који смањују ниво H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, вјероватно у сарадњи са Trx и Grx. Активност HO-1 је изазвана оксидативним стресом, а своју кардиопротективну улогу остварује на тај начин што подстиче продукцију угљен монооксида, гасотрансмитера који има веома важну улогу у кардиопротекцији.

Антиоксидативни витамини, као што су витамин Е и витамин Ц, смањују липидну пероксидацију и смањују оксидативни стрес (66). У експерименталним моделима акутног оштећења миокарда, ниво GSH је снижен (88,111,144,188,189,191,200). У нашој студији антиоксидативна одбрана је процијењена кроз ензимску заштиту организма, активношћу SOD, CAT, те неензимску, повећаном концентрацијом GSH. Активност SOD и CAT и ниво GSH у акутном оштећењу миокарда и срчаном попуштању смањена је код пацова третираних изопренилином, а резултати су у складу са неколико студија (147,166,174,208–210). Сам лираглутид је значајно повећао антиоксидативни одбрамбени систем организма, те је успио да ублажи редукцију SOD и GSH, а чак и да превенира пад CAT код акутног оштећења миокарда, испољавајући антиоксидативну улогу у кардиопротекцији.

Патохистолошка анализа показала је нормалну хомогену структуру миокарда у контролним групама пацова и код акутног оштећења миокарда и код попуштања срца, за разлику од групе пацова који су третирани изопренилином, у којој се уочава фрагментација кардиомиоцита, интерстицијални едем, значајна инфилтрација лимфоцита и макрофага и крварење (и у експерименту акутног оштећења миокарда и експерименту попуштања срца). Примјена лираглутида код акутног оштећења миокарда и попуштања срца значајно је редуковала ове промјене, и могла се детектовати само дискретна инфламација и фокално оштећење кадиомиоцита. Антиинфламаторна улога лираглутида постигнута је промјеном форме макрофага у њихов антиинфламаторни облик, смањењем броја проинфламаторних имунских ћелија, и превенирањем апоптозе (115,211).

Имунохистохемијска анализа је показала пораст броја ћелија позитивних на проапоптотске маркере у акутном оштећењу срца изазваним изопренилином, каспаза 3 и BAX позитивних ћелије, док је смањен проценат ћелија позитивних на антиапоптотски маркер Bcl-2. Експерименталне студије су показале да је у изопренилинском моделу оштећења миокарда повећана експресија каспазе 3 (122,212,213) и BAX (213), а смањена Bcl-2 (213). Значај примјене лираглутида у акутном оштећењу срца је потврђен смањењем процента ћелија позитивних на каспазу 3 и BAX, а повећање ћелија позитивних на Bcl-2. Ови резултати су у сагласности са другим студијама које су показале да лираглутид смањује експресију каспазе 3 (122,214) и BAX (215–217), а повећава експресију Bcl-2 (215–217).

Значајна улога NF-κB у патофизиологији оштећења срца изазваног изопренилином доказана је у овој али и у другим студијама (213,218). Повећан проценат NF-κB позитивних ћелија говори у прилог томе да је NF-κB дио сигналног пута којим изопренилин изазива оштећење миокарда, највјероватније MAPK/NF-κB (218). Примјена лираглутида код акутног оштећења срца довела је смањења броја позитивних ћелија на NF-κB. Лираглутид доказано смањује експресију NF-κB (219).

Резултати проведене студије доказали су кардиопротективне ефекте лираглутида. Лираглутид примијењен у превенцији акутног оштећења миокарда и превенцији попуштања срца смањује серумске срчане маркере, прооксидативне маркере, побољшава антиоксидативни одбрамбени систем (ензимски и неензимски), ублажава хемодинамске промјене регистроване ЕКГ-ом и ЕХО-ом, те смањује апоптозу каридомиоцита код пацова третираних изопренилином.



## 7 ЗАКЉУЧЦИ

На основу приказаних резултата експерименталне студије код пацова, могу се извести сљедећи закључци:

1. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца ублажава ЕКГ промјене изазавне изопреналином
2. Примјена лираглутида у превенцији попуштања срца ублажава ЕХО промјене изазавне изопреналином
3. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца смањује индекс срчане масе изазавн изопреналином, односно спречава хипертрофију срца
4. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца превенира пораст маркера оштећења срчаног мишића изазавн изопреналином
5. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца повећава антиоксидативну заштиту организма повећањем активности SOD и CAT, као и концентрације GSH
6. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца смањује ниво проксидативних маркера, чиме смањује оксидативни стрес узрокован изопреналином
7. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца смањује концентрацију глукозе, и побољшава липидни профил
8. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца и превенцији попуштања срца превенира патохистолошке промјене миокарда узроковане изопреналином
9. Примјена лираглутида у акутном оштећењу срца превенира апоптозу изазвану изопреналином

## **8 ЛИТЕРАТУРА**

1. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: Update from the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(25):2982–3021.
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380(9859):2095–128.
3. Boarescu PM, Chirilă I, Bulboacă AE, Bocşan IC, Pop RM, Gheban D, et al. Effects of curcumin nanoparticles in isoproterenol-induced myocardial infarction. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:7847142.
4. Axford-Gatley RA, Wilson GJ. Reduction of experimental myocardial infarct size by oral administration of alpha tocopherol. *Cardiovasc Res.* 1991;25(2):89–92.
5. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002;53(1):31–47.
6. King M, Kingery JOE, Casey B. Diagnosis and evaluation of heart failure. *Am Fam Physician.* 2012;85(12):1161–8.
7. Gabriel-Costa D. The pathophysiology of myocardial infarction-induced heart failure. *Pathophysiology.* 2018;25(4):277–84.
8. Poznyak AV, Bharadwaj D, Prasad G, Grechko AV., Sazonova MA, Orekhov AN. Renin-angiotensin system in pathogenesis of atherosclerosis and treatment of cvd. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6702.
9. Mascolo A, Scavone C, Rafaniello C, De Angelis A, Urbanek K, di Mauro G, et al. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the heart and lung: Focus on COVID-19. *Front Pharmacol.* 2021;12:667254.
10. Braunwald E. Heart failure. *JACC Heart Fail.* 2013;1(1):1–20.
11. Bers DM. Altered cardiac myocyte Ca regulation in heart failure. *Physiology.* 2006;21(6):380–7.
12. Dhalla NS, Rangi S, Babick AP, Zieroth S, Elimban V. Cardiac remodeling and subcellular defects in heart failure due to myocardial infarction and aging. *Heart Fail*

- Rev. 2012;17(4–5):671–81.
13. Fukushima A, Milner K, Gupta A, Lopaschuk G. Myocardial energy substrate metabolism in heart failure : from pathways to therapeutic targets. *Curr Pharm Des.* 2015;21(25):3654–64.
  14. Münzel T, Gori T, Keaney JF, Maack C, Daiber A. Pathophysiological role of oxidative stress in systolic and diastolic heart failure and its therapeutic implications. *Eur Heart J.* 2015;36(38):2555–64.
  15. Van Berlo JH, Maillet M, Molkentin JD. Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart. *J Clin Invest.* 2013;123(1):37–45.
  16. Brum PC, Rolim NPL, Bacurau AVN, Medeiros A. Neurohumoral activation in heart failure: The role of adrenergic receptors. *An Acad Bras Cienc.* 2006;78(3):485–503.
  17. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. *Physiol Rev.* 1999;79(1):215–62.
  18. Gullo CE, de Almeida Zia VA, Vilela-Martin JF. Blockade of renin angiotensin system in heart failure post-myocardial infarction: What is the best therapy? *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov.* 2014;9(1):28–37.
  19. Jin D, Takai S, Yamada M, Sakaguchi M, Yao Y, Miyazaki M. Possible roles of cardiac chymase after myocardial infarction in hamster hearts. *Jpn J Pharmacol.* 2001;86(2):203–14.
  20. Ferrario C, Schiffrin E. Translational success stories: Role of mineralocorticoid receptor antagonists in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2015;116(1):206–13.
  21. Abareshi A, Norouzi F, Asgharzadeh F, Beheshti F, Hosseini M, Farzadnia M, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on cardiac fibrosis and oxidative stress status in lipopolysaccharide-induced inflammation model in rats. *Int J Prev Med.* 2017;8:69.
  22. Zhang WW, Bai F, Wang J, Zheng RH, Yang LW, James EA, et al. Edaravone inhibits pressure overload-induced cardiac fibrosis and dysfunction by reducing expression of angiotensin II ATI receptor. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:3019–33.
  23. Cao Z, Jia Y, Zhu B. BNP and NT-proBNP as diagnostic biomarkers for cardiac dysfunction in both clinical and forensic medicine. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8):1820.
  24. Fu S, Ping P, Zhu Q, Ye P, Luo L. Brain natriuretic peptide and its biochemical, analytical, and clinical issues in heart failure: A narrative review. *Front Physiol.*

- 2018;9:692.
25. Magnussen C, Blankenberg S. Biomarkers for heart failure: small molecules with high clinical relevance. *J Intern Med.* 2018;283(6):530–43.
  26. Bork NI, Nikolaev VO. cGMP signaling in the cardiovascular system—the role of compartmentation and its live cell imaging. *Int J Mol Sci.* 2018;19(3):801.
  27. Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: Roles of local factors. *Cardiovasc Res.* 2009;81(3):482–90.
  28. Fan H, Sun B, Gu Q, Lafond-Walker A, Cao S, Becker LC. Oxygen radicals trigger activation of NF- $\kappa$ B and AP-1 and upregulation of ICAM-1 in reperfused canine heart. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2002;282(5):1778–86.
  29. Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: Possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation.* 1998;98(2):149–56.
  30. Irwin MW, Mak S, Mann DL, Qu R, Penninger JM, Yan A, et al. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor- $\alpha$  in postinfarction dysfunctional myocardium. *Circulation.* 1999;99(11):1492–8.
  31. Frangogiannis NG. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodeling. *Nat Rev Cardiol.* 2014;11(5):255–65.
  32. Gwechenberger M, Mendoza LH, Youker KA, Frangogiannis NG, Wayne Smith C, Michael LH, et al. Cardiac myocytes produce interleukin-6 in culture and in viable border zone of reperfused infarctions. *Circulation.* 1999;99(4):546–51.
  33. Heusch P, Aker S, Boengler K, Deindl E, Van De Sand A, Klein K, et al. Increased inducible nitric oxide synthase and arginase II expression in heart failure: No net nitrite/nitrate production and protein S-nitrosylation. *Am J Physiol - Heart Circ Physiol.* 2010;299(2):446–53.
  34. Sirker A, Zhang M, Shah AM. NADPH oxidases in cardiovascular disease: Insights from in vivo models and clinical studies. *Basic Res Cardiol.* 2011;106(5):735–47.
  35. Takimoto Y, Aoyama T, Keyamura R, Shinoda E, Hattori R, Yui Y, et al. Differential expression of three types of nitric oxide synthase in both infarcted and non-infarcted left ventricles after myocardial infarction in the rat. *Int J Cardiol.* 2000;76(2–3):135–45.
  36. Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, Shah AM. Role of oxidative stress in cardiac

- remodelling after myocardial infarction. *Heart Lung Circ.* 2004;13(2):132–8.
37. Weber KT, Sun Y, Bhattacharya SK, Ahokas RA, Gerling IC. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart. *Nat Rev Cardiol.* 2013;10(1):15–26.
  38. Mackiewicz U, Maczewski M, Konior A, Tellez JO, Nowis D, Dobrzynski H, et al. Sarcolemmal Ca<sup>2+</sup>-ATPase ability to transport Ca<sup>2+</sup> gradually diminishes after myocardial infarction in the rat. *Cardiovasc Res.* 2009;81(3):546–54.
  39. Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. Physiologic basis and pathophysiologic implications of the diastolic properties of the cardiac muscle. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:807084.
  40. Curran J, Hinton MJ, Ríos E, Bers DM, Shannon TR. B-adrenergic enhancement of sarcoplasmic reticulum calcium leak in cardiac myocytes is mediated by calcium/calmodulin-dependent protein kinase. *Circ Res.* 2007;100(3):391–8.
  41. Fearnley CJ, Llewelyn Roderick H, Bootman MD. Calcium signaling in cardiac myocytes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(11):a004242.
  42. Guo A, Zhang C, Wei S, Chen B, Song LS. Emerging mechanisms of T-tubule remodelling in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2013;98(2):204–15.
  43. Schaper J, Froede R, Hein S, Buck A, Hashizume H, Speiser B, et al. Impairment of the myocardial ultrastructure and changes of the cytoskeleton in dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1991;83(2):504–14.
  44. Gerges M, Gerges C, Pistritto A, Lang M, Trip P, Jakowitsch J, et al. Pulmonary hypertension in heart failure: epidemiology, right ventricular function and survival. *American J Crit Care Med.* 2015;192(10):1234–46.
  45. Liao X, Chang E, Tang X, Watanabe I, Zhang R, Jeong HW, et al. Cardiac macrophages regulate isoproterenol-induced Takotsubo-like cardiomyopathy. *JCI Insight.* 2022;7(3):e156236.
  46. Fan X, Yang G, Kowitz J, Akin I, Zhou X, El-Battrawy I. Takotsubo syndrome: Translational implications and pathomechanisms. *Int J Mol Sci.* 2022;23(4):1951.
  47. Sies H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants.* 2020;9(9):852.
  48. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev.*

- 2017;2017:8416763.
49. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1245049.
  50. van der Pol A, van Gilst WH, Voors AA, van der Meer P. Treating oxidative stress in heart failure: past, present and future. *Eur J Heart Fail*. 2019;21(4):425–35.
  51. Nabeebaccus AA, Reumiller CM, Shen J, Zoccarato A, Santos CXC, Shah AM. The regulation of cardiac intermediary metabolism by NADPH oxidases. *Cardiovasc Res*. 2023;118(17):3305-19.
  52. Peoples JN, Saraf A, Ghazal N, Pham TT, Kwong JQ. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Exp Mol Med*. 2019;51(12):1-13.
  53. Kuroda J, Ago T, Matsushima S, Zhai P, Schneider MD, Sadoshima J. NADPH oxidase 4 (Nox4) is a major source of oxidative stress in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(35):15565–70.
  54. Hill MF, Singal PK. Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Am J Pathol*. 1996;148(1):291–300.
  55. Khaper N, Singal PK. Effects of afterload-reducing drugs on pathogenesis of antioxidant changes and congestive heart failure in rats. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29(4):856–61.
  56. Khaper N, Kaur K, Li T, Farahmand F, Singal PK. Antioxidant enzyme gene expression in congestive heart failure following myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*. 2003;251(1–2):9–15.
  57. van Deel ED Van, Lu Z, Xu X, Zhu G, Hu X, Oury TD, et al. Extracellular SOD protects the heart against oxidative stress and hypertrophy after myocardial infarction. *Free Radic Biol Med*. 2009;44(7):1305–13.
  58. Ding Y, Li YL, Zimmerman MC, Davisson RL, Schultz HD. Role of CuZn superoxide dismutase on carotid body function in heart failure rabbits. *Cardiovasc Res*. 2009;81(4):678–85.
  59. Shiomi T, Tsutsui H, Matsusaka H, Murakami K, Hayashidani S, Ikeuchi M, et al. Overexpression of glutathione peroxidase prevents left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2004;109(4):544–9.
  60. Yoshida T, Watanabe M, Engelman DT, Engelman RM, Schley JA, Maulik N, et al.

- Glutathione peroxidase are resistant to myocardial ischemia reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1996;28(8):1759–67.
61. Forgione MA, Cap A, Liao R, Moldovan NI, Eberhardt RT, Lim CC, et al. Heterozygous cellular glutathione peroxidase deficiency in the mouse: Abnormalities in vascular and cardiac function and structure. *Circulation.* 2002;106(9):1154–8.
  62. Diguët N, Trammell S, Tannous C, Deloux R, Piquereau J, Maougenot N, et al. Nicotinamide riboside preserves cardiac function in a mouse model of dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 2018;137(21):2256–73.
  63. Adamy C, Mulder P, Khouzami L, Andrieu-abadie N, Defer N, Candiani G, et al. Neutral sphingomyelinase inhibition participates to the benefits of N-acetylcysteine treatment in post-myocardial infarction failing heart rats. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;43(3):344–53.
  64. Bourraindeloup M, Adamy C, Candiani G, Cailleret M, Bourin MC, Badoual T, et al. N-acetylcysteine treatment normalizes serum tumor necrosis factor- $\alpha$  level and hinders the progression of cardiac injury in hypertensive rats. *Circulation.* 2004;110(14):2003–9.
  65. Damy T, Kirsch M, Khouzami L, Caramelle P, Le Corvoisier P, Roudot-Thoraval F, et al. Glutathione deficiency in cardiac patients is related to the functional status and structural cardiac abnormalities. *PLoS One.* 2009;4(3):e4871.
  66. Sverdlov A, Ngo D, Colucci W. Chapter 8 - Oxidative stress in heart failure. Fourth Ed. *Heart Failure: A Companion to Braunwald's heart disease.* Elsevier; 2016. p. 115–26.
  67. Assem M, Teyssier JR, Benderitter M, Terrand J, Laubriet A, Javouhey A, et al. Pattern of superoxide dismutase enzymatic activity and RNA changes in rat heart ventricles after myocardial infarction. *Am J Pathol.* 1997;151(2):549–55.
  68. Sverdlov AL, Elezaby A, Qin F, Behring JB, Luptak I, Calamaras TD, et al. Mitochondrial reactive oxygen species mediate cardiac structural, functional, and mitochondrial consequences of diet-induced metabolic heart disease. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(1):e002555.
  69. Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, Marklund SL. Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(14):6264–8.

70. Dai DF, Johnson SC, Villarin JJ, Chin MT, Nieves-Cintrón M, Chen T, et al. Mitochondrial oxidative stress mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and  $\alpha\text{q}$  overexpression-induced heart failure. *Circ Res.* 2011;108(7):837–46.
71. Liu Y, Gutterman DD. Oxidative stress and potassium channel function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;29(4):305–11.
72. Aimo A, Castiglione V, Borrelli C, Saccaro LF, Franzini M, Masi S, et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol.* 2020;27(5):494–510.
73. Minatoguchi S, Takemura G, Chen XH, Wang N, Uno Y, Koda M, et al. Acceleration of the healing process and myocardial regeneration may be important as a mechanism of improvement of cardiac function and remodeling by postinfarction granulocyte colony-stimulating factor treatment. *Circulation.* 2004;109(21):2572–80.
74. Barandon L, Couffignal T, Dufourcq P, Ezan J, Costet P, Daret D, et al. Frizzled A, a novel angiogenic factor: Promises for cardiac repair. *Eur J Cardio-thoracic Surg.* 2004;25(1):76–83.
75. Bonvini RF, Hendiri T, Camenzind E. Inflammatory response post-myocardial infarction and reperfusion: A new therapeutic target? *Eur Hear Journal.* 2005;7(Suppl I):127–36.
76. Lodrini AM, Goumans M-J. Cardiomyocytes cellular phenotypes after myocardial infarction. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:750510.
77. Xia P, Liu Y, Cheng Z. Signaling pathways in cardiac myocyte apoptosis. *Biomed Res Int.* 2016;2016:9583268.
78. Teringova E, Tousek P. Apoptosis in ischemic heart disease. *J Transl Med.* 2017;15(1):87.
79. Korshunova AY, Blagonravov ML, Neborak EV., Syatkin SP, Sklifasovskaya AP, Semyatov SM, et al. BCL2-regulated apoptotic process in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review). *Int J Mol Med.* 2021;47(1):23–36.
80. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohail M, Krausz T, et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med.* 1999;190(12):1733–9.
81. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi I, Watanabe Y, Matsushima K. Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against



- interleukin-8. *Nature*. 1993;365(6447):654–7.
82. Kereiakes DJ. Inflammation as a therapeutic target: A unique role for abciximab. *Am Heart J*. 2003;146(4 Suppl.):S1-4.
  83. Serini G, Gabbiani G. Mechanisms of myofibroblast activity and phenotypic modulation. *Exp Cell Res*. 1999;250(2):273–83.
  84. Pluijmert NJ, Atsma DE, Quax PHA. Post-ischemic myocardial inflammatory response: A complex and dynamic process susceptible to immunomodulatory therapies. *Front Cardiovasc Med*. 2021;8:647785.
  85. Yan W, Abu-El-Rub E, Saravanan S, Kirshenbaum LA, Arora RC, Dhingra S. Inflammation in myocardial injury: Mesenchymal stem cells as potential immunomodulators. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 2019;317(2):H213–25.
  86. Liu J, Wang H, Li J. Inflammation and inflammatory cells in myocardial infarction and reperfusion injury: A double-edged sword. *Clin Med Insights Cardiol*. 2016;10:79–84.
  87. Frangogiannis N. Interleukin-1 in cardiac injury, repair, and remodeling: pathophysiologic and translational concepts. *Discoveries*. 2015;3(1):e41.
  88. Hamed AB, Mantawy EM, El-Bakly WM, Abdel-Mottaleb Y, Azab SS. Putative anti-inflammatory, antioxidant, and anti-apoptotic roles of the natural tissue guardian methyl palmitate against isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Futur J Pharm Sci*. 2020;6:31.
  89. Takahashi M. Role of NLRP3 inflammasome in cardiac inflammation and remodeling after myocardial infarction. *Biol Pharm Bull*. 2019;42(4):518–23.
  90. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation*. 2004;109(23 Suppl.):20–6.
  91. Liuzzo G, Buffon A, Biasucci LM, Gallimore JR, Caligiuri G, Vitelli A, et al. Enhanced inflammatory response to coronary angioplasty in patients with severe unstable angina. *Circulation*. 1998;98(22):2370–6.
  92. Cusack MR, Marber MS, Lambiase PD, Bucknall CA, Redwood SR. Systemic inflammation in unstable angina is the result of myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(12):1917–23.
  93. Wang XY, Zhang F, Zhang C, Zheng LR, Yang J. The biomarkers for acute myocardial infarction and heart failure. *Biomed Res Int*. 2020;2020:2018035.

94. Tian M, Yuan Y-C, Li J-Y, Gionfriddo MR, Huang R-C. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review. *Chronic Dis Transl Med.* 2015;1(1):18–26.
95. James J, Robbins J. Molecular remodeling of cardiac contractile function. *Am J Physiol.* 1997;273(5):H2105-18.
96. Savard GK, Areskog N -H, Saltin B. Cardiovascular response to exercise in humans following acclimatization to extreme altitude. *Acta Physiol Scand.* 1995;154(4):499–509.
97. Afanas'Ev I. ROS and RNS signaling in heart disorders: Could antioxidant treatment be successful? *Oxid Med Cell Longev.* 2011;2011:293769.
98. Ozeki M, Nagasu H, Satoh M, Namikoshi T, Haruna Y, Tomita N, et al. Reactive oxygen species mediate compensatory glomerular hypertrophy in rat uninephrectomized kidney. *J Physiol Sci.* 2009;59(5):397–404.
99. Givvimani S, Munjal C, Gargoum R, Sen U, Tyagi N, Vacek JC, et al. Hydrogen sulfide mitigates transition from compensatory hypertrophy to heart failure. *J Appl Physiol.* 2011;110(4):1093–100.
100. Kurian GA, Rajagopal R, Vedantham S, Rajesh M. The role of oxidative stress in myocardial ischemia and reperfusion injury and remodeling: Revisited. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1656450.
101. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Burns C. Cardiac fibrosis: The fibroblast awakens. *Circ Res.* 2017;118(6):1021–40.
102. Afroz R, Tanvir EM, Karim N, Hossain MS, Alam N, Gan SH, et al. Sundarban honey confers protection against isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *Biomed Res Int.* 2016;2016:6437641.
103. Nagoor Meeran MF, Jagadeesh GS, Selvaraj P. Catecholamine toxicity triggers myocardial membrane destabilization in rats: Thymol and its counter action. *RSC Adv.* 2015;5(54):43338–44.
104. Hemalatha KL, Mainzen Prince PS. Preventive effects of zingerone on cardiac mitochondrial oxidative stress, calcium ion overload and adenosine triphosphate depletion in isoproterenol induced myocardial infarcted rats. *RSC Adv.* 2016;6(113):112332–9.
105. Xiang Y. Compartmentalization of  $\beta$ -adrenergic signals in cardiomyocytes. *Circ Res.*

- 2011;109(3):231–244.
106. Goricanec D, Stehle R, Egloff P, Grigoriu S, Plückthun A, Wagner G, et al. Conformational dynamics of a G-protein  $\alpha$  subunit is tightly regulated by nucleotide binding. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(26):E3629–38.
  107. Eltobshy SAG, Hussein AM, Elmileegy AA, Askar MH, Khater Y, Metias EF, et al. Effects of heme oxygenase-1 upregulation on isoproterenol-induced myocardial infarction. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2019;23(3):203–17.
  108. Khalil MI, Ahmmed I, Ahmed R, Tanvir EM, Afroz R, Paul S, et al. Amelioration of Isoproterenol-induced oxidative damage in rat myocardium by *Withania somnifera* leaf extract. *Biomed Res Int*. 2015;2015:624159.
  109. Spannbaauer A, Traxler D, Zlabinger K, Gugerell A, Winkler J, Mester-Tonczar J, et al. Large animal models of heart failure with reduced ejection fraction (HF<sub>r</sub>EF). *Front Cardiovasc Med*. 2019;6:117.
  110. Riehle C, Bauersachs J. Small animal models of heart failure. *Cardiovasc Res*. 2019;115(13):1838–49.
  111. Uzelac JJ, Djukic T, Mutavdzin S, Stankovic S, Borovic ML, Rakocevic J, et al. The influence of subchronic co-application of vitamins B<sub>6</sub> and folic acid on cardiac oxidative stress and biochemical markers in monocrotaline-induced heart failure in male wistar albino rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2020;98(2):93–102.
  112. Octavia Y, Kararigas G, de Boer M, Chrifi I, Kietadisorn R, Swinnen M, et al. Folic acid reduces doxorubicin-induced cardiomyopathy by modulating endothelial nitric oxide synthase. *J Cell Mol Med*. 2017;21(12):3277–87.
  113. Tancredi M, Rosengren A, Svensson A-M, Kosiborod M, Pivodic A, Gudbjörnsdottir S, et al. Excess mortality among persons with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(18):1720–32.
  114. Andrikou E, Tsioufis C, Andrikou I, Leontsinis I, Tousoulis D, Papanas N. GLP-1 receptor agonists and cardiovascular outcome trials: An update. *Hell J Cardiol*. 2019;60(6):347–51.
  115. Ma X, Liu Z, Ilyas I, Little PJ, Kamato D, Sahebka A, et al. Glp-1 receptor agonists (Glp-1ras): Cardiovascular actions and therapeutic potential. *Int J Biol Sci*. 2021;17(8):2050–68.
  116. Meier JJ, Gethmann A, Götze O, Gallwitz B, Holst JJ, Schmidt WE, et al. Glucagon-

- like peptide 1 abolishes the postprandial rise in triglyceride concentrations and lowers levels of non-esterified fatty acids in humans. *Diabetologia*. 2006;49(3):452–8.
117. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet*. 2002;359(9309):824–30.
  118. Zhao X, Wang M, Wen Z, Lu Z, Cui L, Fu C, et al. GLP-1 receptor agonists: Beyond their pancreatic effects. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:721135.
  119. Howell R, Wright A, Clements J. Clinical potential of liraglutide in cardiovascular risk reduction in patients with type 2 diabetes: evidence to date. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2019;12:505–12.
  120. Saraiva FK, Sposito AC. Cardiovascular effects of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:142.
  121. Heuvelman VD, Van Raalte DH, Smits MM. Cardiovascular effects of glucagon-like peptide 1 receptor agonists: From mechanistic studies in humans to clinical outcomes. *Cardiovasc Res*. 2020;116(5):916–30.
  122. Taşkıran E, Erdoğan MA, Yiğittürk G, Erbaş O. Therapeutic effects of liraglutide, oxytocin and granulocyte colony-stimulating factor in doxorubicin-induced cardiomyopathy model: An experimental animal study. *Cardiovasc Toxicol*. 2019;19(6):510–7.
  123. AlAsmari AF, Ali N, AlAsmari F, AlAnazi WA, AlShammari MA, Al-Harbi NO, et al. Liraglutide attenuates gefitinib-induced cardiotoxicity and promotes cardioprotection through the regulation of MAPK/NF-κB signaling pathways. *Saudi Pharm J*. 2020;28(4):509–18.
  124. Sukumaran V, Tsuchimochi H, Sonobe T, Waddingham MT, Shirai M, Pearson JT. Liraglutide treatment improves the coronary microcirculation in insulin resistant Zucker obese rats on a high salt diet. *Cardiovasc Diabetol*. 2020;19(1):24.
  125. Ilic A, Todorovic D, Mutavdzin S, Boricic N, Nedeljkovic BB, Stankovic S, et al. Translocator protein modulation by 4'-chlorodiazepam and no synthase inhibition affect cardiac oxidative stress, cardiometabolic and inflammatory markers in isoprenaline-induced rat myocardial infarction. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):2867.
  126. Ljubunčić P, Stojiljković M, Winterhalter-Jadrić M, Vidović Z, Mujić F. Efikasnost predtretmana blokatorima beta-adrenergickih receptora u suzbijanju kardiotskicnih

- efekata izoprenalina u pacova [Efficacy of pretreatment with adrenergic beta-receptor blockers in the prevention of cardiotoxic effects of isoprenaline in rats]. *Vojnosanit Pregl.* 1992;49(4):297–304.
127. Redfors B, Shao Y, Omerovic E. Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat. *Lab Anim.* 2014;48(1):6–14.
  128. Brown L, Fenning A, Chan V, Loch D, Wilson K, Anderson B, et al. Echocardiographic assessment of cardiac structure and function in rats. *Heart Lung Circ.* 2002;11(3):167–73.
  129. Bernardo I, Wong J, Wlodek ME, Vlahos R, Soeding P. Evaluation of right heart function in a rat model using modified echocardiographic views. *PLoS One.* 2017;12(10):e0187345.
  130. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351–8.
  131. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982;126(1):131–8.
  132. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods.* 1980;38(1–2):161–70.
  133. Auclair C, Voisin E. Nitroblue-tetrazolium reduction. In: *Handbook of methods for oxygen radical research.* Greenwald ed. Boca Raton: CRC Press; 1985. p. 123–32.
  134. Beutler E. *Manual of biochemical methods.* New York: Grune and Stratton; 1982. 105–106 p.
  135. Beutler E. *Red Cell Metabolism a Manual of biochemical methods.* Philadelphia: Grune and Stratton; 1984. 83–85 p.
  136. Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963;61:882-8.
  137. Rankovic M, Dragicin N, Jeremic J, Samanovic AM, Stojkov S, Mitrovic S, et al. Protective role of vitamin B1 in doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: Focus on hemodynamic, redox, and apoptotic markers in heart. *Front Physiol.* 2021;12:690619.
  138. Joksimovic Jovic J, Sretenovic J, Jovic N, Rudic J, Zivkovic V, Srejovic I, et al. Cardiovascular properties of the androgen-induced PCOS model in rats: The role of

- oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:8862878.
139. Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963;61:882–8.
  140. Králová E, Mokrán T, Murín J, Stankovicová T. Electrocardiography in two models of isoproterenol-induced left ventricular remodeling. *Physiol Res.* 2008;57 Suppl 2:S83-9.
  141. Mehta A, Marso SP, Neeland IJ. Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence. *Obes Sci Pract.* 2017;3(1):3–14.
  142. Alruwaili H, Dehestani B, Le Roux CW. Clinical impact of liraglutide as a treatment of obesity. *Clin Pharmacol.* 2021;13:53–60.
  143. Chowdhury D, Tangutur AD, Khatua TN, Saxena P, Banerjee SK, Bhadra MP. A proteomic view of isoproterenol induced cardiac hypertrophy: Prohibitin identified as a potential biomarker in rats. *J Transl Med.* 2013;11(1):130.
  144. Jain PG, Mahajan UB, Shinde SD, Surana SJ. Cardioprotective role of FA against isoproterenol induced cardiac toxicity. *Mol Biol Rep.* 2018;45(5):1357–65.
  145. Konopelski P, Ufnal M. Electrocardiography in rats: A comparison to human. *Physiol Res.* 2016;65(5):717–25.
  146. Krenek P, Kmecova J, Kucerova D, Bajuszova Z, Musil P, Gazova A, et al. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function. *Eur J Heart Fail.* 2009;11(2):140–6.
  147. Liu M, Xue Y, Liang Y, Xue Y, Han X, Li Z, et al. Mechanisms underlying the cardioprotection of Yangxindingji capsule against myocardial ischemia in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020;2020:8539148.
  148. Hasan R, Lasker S, Hasan A, Zerín F, Zamila M, Chowdhury FI, et al. Canagliflozin attenuates isoprenaline-induced cardiac oxidative stress by stimulating multiple antioxidant and anti-inflammatory signaling pathways. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–19.
  149. Wu J, Fu Y, Wu YX, Wu ZX, Wang ZH, Li P. Lycorine ameliorates isoproterenol-induced cardiac dysfunction mainly via inhibiting inflammation, fibrosis, oxidative stress and apoptosis. *Bioengineered.* 2021;12(1):5583–94.
  150. Ismail DI, ShamsEldeen AM, Rashed LA, Shama AAED, Ashour SS, Aboulkhair AG. Cardioprotective potential of zinc and vitamin E against isoprenaline-induced myocardial infarction in albino rats by targeting autophagy: A histological and

- biochemical study. *Egypt J Histol.* 2021;44(2):450–64.
151. Kabir F, Nahar K, Rahman MM, Al Mamun A, Faruk M, Hossain MH, et al. Beetroot powder supplementation prevents oxidative stress and inflammatory cells infiltration in isoprenaline-induced myocardial damage in rats. *Med J Nutrition Metab.* 2019;12(2):197–209.
  152. Thangaiyan R, Arjunan S, Govindasamy K, Khan HA, Alhomida AS, Prasad NR. Galangin attenuates isoproterenol-induced inflammation and fibrosis in the cardiac tissue of albino Wistar rats. *Front Pharmacol.* 2020;11:585163.
  153. Viswanadha VP, Dhivya V, Beeraka NM, Huang CY, Gavryushova LV., Minyaeva NN, et al. The protective effect of piperine against isoproterenol-induced inflammation in experimental models of myocardial toxicity. *Eur J Pharmacol.* 2020;885(August):173524.
  154. Li L, Fang H, Yu YH, Liu SX, Yang ZQ. Liquiritigenin attenuates isoprenaline-induced myocardial fibrosis in mice through the TGF- $\beta$ 1/SMAD2 and AKT/ERK signaling pathways. *Mol Med Rep.* 2021;24(2):686.
  155. Li C, Huang D, Tang J, Chen M, Lu Q, Li H, et al. ClC-3 chloride channel is involved in isoprenaline-induced cardiac hypertrophy. *Gene.* 2018;642:335–42.
  156. Wang FZ, Wei WB, Li X, Huo JY, Jiang WY, Wang HY, et al. The cardioprotective effect of the sodium-glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin in rats with isoproterenol-induced cardiomyopathy. *Am J Transl Res.* 2021;13(9):10950–61.
  157. Sarantos-Laska C, McCulloch MW, Rand MJ, Laska FJ. The positive inotropic action of isoprenaline is associated with the release of noradrenaline from rabbit, guinea-pig and rat atria. *J Auton Pharmacol.* 1984;4(3):175–83.
  158. Prendergast CE, Shankley NP, Black JW. Negative inotropic effects of isoprenaline on isolated left atrial assays from aged transgenic mice with cardiac over-expression of human  $\beta$ 2-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* 2000;129(7):1285–8.
  159. Collins HE, Rodrigo GC. Inotropic response of cardiac ventricular myocytes to  $\beta$ -adrenergic stimulation with isoproterenol exhibits diurnal variation: Involvement of nitric oxide. *Circ Res.* 2010;106(7):1244–52.
  160. Jøns C, Porta-Sánchez A, Lai PFH, Wauchop M, Massé S, Azam MA, et al. Mechanism of and strategy to mitigate liraglutide-mediated positive chronotropy. *Life Sci.* 2021;282:119815.

161. Qiao L, Fan X, Yang Z, El-Battrawy I, Zhou X, Akin I. Glucose counteracts isoprenaline effects on ion channel functions in human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2022;9(3):73.
162. Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac troponins: From myocardial infarction to chronic disease. *Cardiovasc Res.* 2017;113(14):1708–18.
163. Aydin S, Ugur K, Aydin S, Sahin İ, Yardim M. Biomarkers in acute myocardial infarction: Current perspectives. *Vasc Health Risk Manag.* 2019;15:1–10.
164. Bodor GS. Biochemical markers of myocardial damage. *EJIFCC.* 2016;27(2):95–111.
165. Park J, Yang K, Lee SH, Lee JH, Min JJ, Kwon JH, et al. Comparison of acute and chronic myocardial injury in non-cardiac surgical patients. *PLoS One.* 2020;15(7):e0234776.
166. Panda S, Kar A, Biswas S. Preventive effect of Agnucastolide C against isoproterenol-induced myocardial injury. *Sci Rep.* 2017;7(1):16146.
167. Younis NS, Abduldaium MS, Mohamed ME. Protective effect of geraniol on oxidative, inflammatory and apoptotic alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity: Role of the Keap1/Nrf2/HO-1 and PI3K/Akt/mTOR pathways. *Antioxidants.* 2020;9(10):977.
168. Keihanian F, Moohebbati M, Saeidinia A, Mohajeri SA, Madaeni S. Therapeutic effects of medicinal plants on isoproterenol-induced heart failure in rats. *Biomed Pharmacother.* 2021;134:111101.
169. Pan Y, Gao J, Gu R, Song W, Li H, Wang J, et al. Effect of injection of different doses of isoproterenol on the hearts of mice. *BMC Cardiovasc Disord.* 2022;22:409.
170. Lambadiari V, Pavlidis G, Kousathana F, Varoudi M, Vlastos D, Maratou E, et al. Effects of 6-month treatment with the glucagon like peptide-1 analogue liraglutide on arterial stiffness, left ventricular myocardial deformation and oxidative stress in subjects with newly diagnosed type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):8.
171. Margulies KB, Hernandez AF, Redfield MM, Givertz MM, Oliveira GH, Cole R, et al. Effects of liraglutide on clinical stability among patients with advanced heart failure and reduced ejection fraction: A randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;316(5):500–8.
172. Baars T, Sowa JP, Neumann U, Hendricks S, Jinawy M, Kälsch J, et al. Liver parameters as part of a non-invasive model for prediction of all-cause mortality after



- myocardial infarction. *Arch Med Sci.* 2020;16(1):71–80.
173. Zhu C, Li W, Wang X, Xue J, Zhao L, Song Y, et al. Phloroglucinol averts isoprenaline hydrochloride induced myocardial infarction in rats. *Drug Dev Res.* 2019;80(4):453–60.
174. Mert H, Yilmaz H, Irak K, Yildirim S, Mert N. Investigation of the protective effect of kefir against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2018;38(2):259–72.
175. Smith U. Adrenergic control of lipid metabolism. *Acta Med Scand.* 1983;213(672 S):41–7.
176. Bove M, Cicero AFG, Manca M, Georgoulis I, Motta R, Incorvaia L, et al. Sources of variability of plasma HDL-cholesterol levels. *Future Lipidol.* 2007;2(5):557–69.
177. Vergès B, Duvillard L, Pais De Barros J, Bouillet B, Baillot-Rudoni S, Rouland A, et al. Liraglutide reduces postprandial hyperlipidemia by increasing ApoB48 (apolipoprotein B48) catabolism and by reducing ApoB48 production in patients with type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018;38(9):2198–206.
178. Olsen T, Vinknes KJ, Svingen GFTT, Pedersen ER, Dhar I, Tell GS, et al. The risk association of plasma total homocysteine with acute myocardial infarction is modified by serum vitamin A. *Eur J Prev Cardiol.* 2018;25(15):1612–20.
179. Djuric DM. Editorial: Sulfur-containing amino acids in cardiovascular and neural physiology, pathophysiology and pharmacology: An overview and update. *Curr Med Chem.* 2018;25(3):322–3.
180. Sreckovic B, Sreckovic VD, Soldatovic I, Colak E, Sumarac-Dumanovic M, Janeski H, et al. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* 2017;11(3):179–82.
181. van Guldener C, Nanayakkara PWB, Stehouwer CDA. Homocysteine and blood pressure. *Curr Hypertens Rep.* 2003;5(1):26–31.
182. Ji J, Feng M, Niu X, Zhang X, Wang Y. Liraglutide blocks the proliferation, migration and phenotypic switching of Homocysteine (Hcy)-induced vascular smooth muscle cells (VSMCs) by suppressing proprotein convertase subtilisin kexin9 (PCSK9)/ low-density lipoprotein receptor (LDLR). *Bioengineered.* 2021;12(1):8057–66.
183. Azzini E, Ruggeri S, Polito A. Homocysteine: Its possible emerging role in at-risk population groups. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1421.

184. Bajic Z, Sobot T, Skrbic R, Stojiljkovic MP, Ponorac N, Matavulj A, et al. Homocysteine, vitamins B6 and folic acid in experimental models of myocardial infarction and heart failure—How strong is that link? *Biomolecules*. 2022;12(4):536.
185. Jayakumar J, Suzuki K, Khan M, Smolenski R, Farrell A, Latif N, et al. Gene therapy for myocardial protection cardiac function against ischemia-reperfusion injury. *Circulation*. 2000;102(19 Supl3): III302-6.
186. Suzuki K, Sawa Y, Kaneda Y, Ichihara H, Shirakura R, Matsuda H. In vivo gene transfection with heat shock protein 70 enhances myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in rat. *J Clin Invest*. 1997;99(7):1645-50.
187. Barbour JA, Turner N. Mitochondrial stress signaling promotes cellular adaptations. *Int J Cell Biol*. 2014;2014:156020.
188. Abdelzaher WY, Ahmed SM, Welson NN, Alsharif KF, Batiha GES, Labib DAA. Dapsone ameliorates isoproterenol-induced myocardial infarction via Nrf2/ HO-1; TLR4/ TNF- $\alpha$  signaling pathways and the suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats. *Front Pharmacol*. 2021;12:669679.
189. Abukhalil MH, Hussein OE, Aladaileh SH, Althunibat OY, Al-Amarat W, Saghir SA, et al. Visnagin prevents isoproterenol-induced myocardial injury by attenuating oxidative stress and inflammation and upregulating Nrf2 signaling in rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021;35(11):e22906.
190. Zaafan MA, Abdelhamid AM. The cardioprotective effect of astaxanthin against isoprenaline-induced myocardial injury in rats: Involvement of TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021;25(11):4099–105.
191. Pullaiah CP, Nelson VK, Rayapu S, Narasimha Kumar G V., Kedam T. Exploring cardioprotective potential of esculetin against isoproterenol induced myocardial toxicity in rats: in vivo and in vitro evidence. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2021;22(1):43.
192. Patel V, Upananlawar A, Zalawadia R, Balaraman R. Cardioprotective effect of melatonin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats: A biochemical, electrocardiographic and histoarchitectural evaluation. *Eur J Pharmacol*. 2010;644(1–3):160–8.
193. Zaafan MA, Zaki HF, El-Brairy AI, Kenawy SA. Isoprenaline-induced myocardial infarction in rats: Protective effects of Hesperidin. *Egypt J Basic Clin Pharmacol*. 2012;2(2):13-22.

194. Noichri Y, Chalghoum A, Chkioua L, Baudin B, Ernez S, Ferchichi S, et al. Low erythrocyte catalase enzyme activity is correlated with high serum total homocysteine levels in Tunisian patients with acute myocardial infarction. *Diagn Pathol.* 2013;8:68.
195. Yin Y, Han W, Cao Y. Association between activities of SOD, MDA and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in peripheral blood of patients with acute myocardial infarction and the complication of varying degrees of arrhythmia. *Hell J Cardiol.* 2019;60(6):366–71.
196. Tanzilli G, Truscelli G, Arrivi A, Carnevale R, Placanica A, Viceconte N, et al. Glutathione infusion before primary percutaneous coronary intervention: A randomised controlled pilot study. *BMJ Open.* 2019;9:e025884.
197. Hossini A, Rajabian A, Sobhanifar MA, Alavi MS, Taghipour Z, Hasanpour M, et al. Attenuation of isoprenaline-induced myocardial infarction by *Rheum turkestanicum*. *Biomed Pharmacother.* 2022;148:112775.
198. Mohamed ME, Abduldaium MS, Younis NS. Cardioprotective effect of linalool against isoproterenol-induced myocardial infarction. *Life (Basel).* 2021;11(2):120.
199. Song L, Srilakshmi M, Wu Y, Saleem TSM. Sulforaphane attenuates isoproterenol-induced myocardial injury in mice. *Biomed Res Int.* 2020;2020:3610285.
200. Hasan R, Lasker S, Hasan A, Zerín F, Zamila M, Parvez F, et al. Canagliflozin ameliorates renal oxidative stress and inflammation by stimulating AMPK–Akt–eNOS pathway in the isoprenaline-induced oxidative stress model. *Sci Rep.* 2020;10(1):14659.
201. Sudha M, Rajkumar D, Felix JW. Protective effect of glutathione against isoproterenol induced myocardial injury in rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2013;57(2):132–7.
202. Kumar M, Kasala ER, Bodduluru LN, Dahiya V, Sharma D, Kumar V, et al. Animal models of myocardial infarction: Mainstay in clinical translation. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;76:221–30.
203. Watanabe Y, Watanabe K, Kobayashi T, Saito Y, Fujioka D, Nakamura T, et al. Chronic depletion of glutathione exacerbates ventricular remodelling and dysfunction in the pressure-overloaded heart. *Cardiovasc Res.* 2013;97(2):282–92.
204. Lu Cai. Diabetic Cardiomyopathy and its prevention by metallothionein: experimental evidence, possible mechanisms and clinical implications. *Curr Med Chem.* 2007;14(20):2193–203.
205. Nimata M, Kishimoto C, Shioji K, Ishizaki K, Kitaguchi S, Hashimoto T, et al.

- Upregulation of redox-regulating protein, thioredoxin, in endomyocardial biopsy samples of patients with myocarditis and cardiomyopathies. *Mol Cell Biochem.* 2003;248(1–2):193–6.
206. Jekell A, Hossain A, Alehagen U, Dahlström U, Rosén A. Elevated circulating levels of thioredoxin and stress in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2004;6(7):883–90.
207. Koneru S, Penumathsa S V., Thirunavukkarasu M, Zhan L, Maulik N. Thioredoxin-1 gene delivery induces heme oxygenase-1 mediated myocardial preservation after chronic infarction in hypertensive rats. *Am J Hypertens.* 2009;22(2):183–90.
208. Wei H, Li H, Wan SP, Zeng QT, Cheng LX, Jiang LL, et al. Cardioprotective effects of malvidin against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: A mechanistic study. *Med Sci Monit.* 2017;23:2007–16.
209. Yu Y, Jin L, Zhuang Y, Hu Y, Cang J, Guo K. Cardioprotective effect of rosuvastatin against isoproterenol-induced myocardial infarction injury in rats. *Int J Mol Med.* 2018;41(6):3509–16.
210. Narayanan G, Prabhu K, Chaudhury AB, Rao MRK, Kalai Selvi VS, Muthiah NS, et al. Cardioprotective role of partharishtam on isoproterenol induced myocardial infarction in animal model. *Pharmacogn J.* 2021;13(2):591–5.
211. Inoue T, Inoguchi T, Sonoda N, Hendarto H, Makimura H, Sasaki S, et al. GLP-1 analog liraglutide protects against cardiac steatosis, oxidative stress and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats. *Atherosclerosis.* 2015;240(1):250–9.
212. Ibrahim MM, Khedr MM, Morsy MH, Badae NM, Elatrebi S. A comparative study of the cardioprotective effect of Metformin, Sitagliptin and Dapagliflozin on isoprenaline induced myocardial infarction in non-diabetic rats. *Bull Natl Res Cent.* 2022;46:123.
213. Huang H, Geng Q, Yao H, Shen Z, Wu Z, Miao X, et al. Protective effect of scutellarin on myocardial infarction induced by isoprenaline in rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2018;21(3):267–76.
214. Sharma MK, Jalewa J, Hölscher C. Neuroprotective and anti-apoptotic effects of liraglutide on SH-SY5Y cells exposed to methylglyoxal stress. *J Neurochem.* 2014;128(3):459–71.
215. Wang W, Wu RD, Chen P, Xu XJ, Shi XZ, Huang LH, et al. Liraglutide combined with human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation inhibits beta-cell apoptosis via mediating the ASK1/JNK/BAX pathway in rats with type 2 diabetes.

- Diabetes Metab Res Rev. 2020;36(2):e3212.
216. Wu J, Xie F, Qin Y, Liu J, Yang Z. Notch signaling is involved in the antiapoptotic effects of liraglutide on rat H9c2 cardiomyocytes exposed to hypoxia followed by reoxygenation. *J Int Med Res.* 2020;48(9):0300060520948394.
217. Wu X, Li S, Xue P, Li Y. Liraglutide inhibits the apoptosis of MC3T3-E1 cells induced by serum deprivation through cAMP/PKA/ $\beta$ -catenin and PI3K/AKT/GSK3 $\beta$  signaling pathways. *Mol Cells.* 2018;41(3):234–43.
218. Verma VK, Malik S, Narayanan SP, Mutneja E, Sahu AK, Bhatia J, et al. Role of MAPK/NF- $\kappa$ B pathway in cardioprotective effect of Morin in isoproterenol induced myocardial injury in rats. *Mol Biol Rep.* 2019;46(1):1139–48.
219. Xu X, Wang W, Lin L, Chen P. Tissue and Cell Liraglutide in combination with human umbilical cord mesenchymal stem cell could improve liver lesions by modulating TLR4 / NF- $\kappa$ B inflammatory pathway and oxidative stress in T2DM / NAFLD rats. *Tissue Cell.* 2020;66:101382.

## ЛИСТА СКРАЋЕНИЦА

<i>Скраћеница</i>	<i>Енглески</i>	<i>Српски</i>
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet oxygen	Синглет кисеоник
ANIP3	BCL-2-interacting protein 3	Протеин 3 који реагује са BCL-2
ANP	Atrial natriuretic peptide	Атријални натриуретски пептид
Araf-1	Apoptotic protease activating factor 1	Фактор 1 активације апоптотичке протеазе
apo	Apolipoprotein	Аполипопротеин
ASC	Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain	Тачкасти апоптотски протеин који садржи домен за везивање каспазе
ATP	Adenosine triphosphate	Аденозин трифосфат
BAK	BCL-2 antagonist/killer	BCL-2 антагонист
BAX	BCL-2-associated X protein	BCL-2-везани X протеин
Bcl-2	B-cell lymphoma-2	Б-ћелијски лимфом-2
BCL-2	B-cell lymphoma/leukemia-2	В-ћелијски лимфом/леукемија 2
BCL-X <sub>L</sub>	BCL2 X-linked protein	BCL-2 X-везани протеин
BNP	Brain natriuretic peptide	Мождани натриуретски пептид
CAT	Catalase	Каталаза
CCL2	CC chemokine ligand 2	ЦЦ хемокински лиганд 2
CCR2	CC chemokine receptor 2	ЦЦ хемокински рецептор 2
cGKs	cGMP-dependent protein kinases	cGMP-зависне протеин киназе
cGMP	Cyclic guanylate monophosphate	Циклични гуанилат монофосфат
CNG (channels)	Cyclic nucleotide-gated (channels)	Канали зависни од цикличних нуклеотида
CNP	C-type natriuretic peptide	Ц-тип натриуретског пептида
CRP	C-reactive protein	Ц-реактивни протеин
DAG	Diacylglycerol	Диацилглицерол
DAMPs	Damage-associated molecular patterns	Молекуларни обрасци повезани са оштећењем

DISC	Death-inducing signaling complex	Сигнални комплекс који индукује смрт ћелије
DPP-4	Dipeptidyl-peptidase 4	Дипептидил-пептидаза
DPPIV	Dipeptidyl peptidase IV	Дипептидил пептидаза IV
EF	Ejection fraction	Ејекциона фракција лијеве коморе
EMA	European Medicines Agency	Европска агенција за лијекове
EPAC2	Rap guanine nucleotide exchange factor 4	Фактор 4 размјене Rap гуанин нуклеотида
ERK1/2	Extracellular regulated kinase	Екстрацелуларно регулисана киназа
ESV	End-systolic volume	Енд-сistolни волумен
FADD	Fas associated death domain	Домен ћелијске смрти везан за Fas
FasL	Fas ligand	Fas лиганд
FDA	US Food and Drug Administration	Америчка агенција за храну и лијекове
FS	Fraction shortening	Фракционо скраћење лијеве коморе
GCs	Guanylyl cyclases	Гванилил циклазе
GDP	Guanosine diphosphate	Гванозин дифосфат
GLP-1	Glukagon-like peptide-1	Глукагону сличан пептид -1
GLP-1RAs	Glukagon-like peptide-1 receptor agonists	Агонисти рецептора глукагону сличног пептида-1
GPx	Glutathione peroxidase	Глутатион пероксидаза
Grx	Glutaredoxin	Глутаредоксин
GSDMD	Gasdermin D	Гасдермин Д
GSH	Reduced glutathione	Редуковани глутатион
GTP	Guanosine triphosphate	Гванозин трифосфат
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hydrogen peroxide	Водоник пероксид
Hcy	Homocysteine	Хомоцистеин
HF	Heart failure	Инсуфицијенција срца
HO-1	Heme oxygenase-1	Хем оксигеназа-1
Hsp	Heat shock proteins	Протеини топлотног шока
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1	Интерцелуларни адхезиони молекул
IDE	Insulin degrading enzyme	Ензим за дегарадацију инсулина
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$	Интерлеукин-1 $\beta$

IL-6	Interleukin-6	Интерлеукин-6
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Индуцибилна азот моноксид синтаза
IP <sub>3</sub>	Inositol triphosphate	Инозитол трифосфат
ISO	Isoprenaline	Изопреналин
IVSd	Diastolic interventricular septum	Дебљина међукоморне преграде у дијастоли
IVSs	Systolic interventricular septum	Дебљина међукоморне преграде у систоли
K <sub>ATP</sub>	ATP-sensitive potassium channel	АТР-сензитивни калијумски канал
K <sub>V</sub>	Potassium voltage-gated channel	Калијумски волтажно-зависни канал
LAD	Left anterior descending artery	Лијева предња нисходна артерија
LCA	Left coronary artery	Лијева коронарна артерија
LDL	Low density lipoprotein	Липопротен мале густине
LDLR	Low density lipoprotein receptor	Рецептор за липопротене мале густине
LVEDV	Left ventricle end-diastolic volume	Енд-дијастолни волумен лијеве коморе
LVIDd	Left ventricle internal diameter in diastole	Унутрашњи пречник лијеве коморе у дијастоли
LVIDs	Left ventricle internal diameter in systole	Унутрашњи пречник лијеве коморе у систоли
LVOTO	Left ventricular outflow tract obstruction	Опструкција излазног тракта лијеве коморе
MAPK	Mitogen-activated protein kinase	Митоген-активирана протеин киназа
mCAT	Mitochondrial catalase	Митохондријална каталаза
MOMP	Mitochondrial outer membrane permeabilization	Пермеабилizације спољашње мембране митохондрија
NAD <sup>+</sup>	Oxydized nicotinamide adenin dinucleotide	Никотинамид аденин динуклеотид у оксидованом облику
NADH	Reduced nicotinamide adenin dinucleotide	Никотинамид аденин динуклеотид у редукованом облику
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	Никотинамид аденин динуклеотид фосфат
NCX	Sodium-calcium exchanger	Натријум-калцијум измењивач
NEP	Neutral endopeptidase	Неутрална ендопептидаза



Nfr2	Nuclear factor erythroid 2- related factor 2	Нуклеарни еритроидни фактор 2
NF-κB	Nuclear factor kappa B	Нуклеарни фактор капа Б
NLRP3	Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor pyrin domain containing 3	Нуклеотид-везујући домен олигомеризације налик домену 3 рецептора пирина
Nmnat	Nicotinamide mononucleotide adenylyl transferase	Никотинамид мононуклеотид аденилил трансфераза
NOX	NADPH oxydase	NADPH оксидаза
NOXA	Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1	Форбол-12-миристат-13-ацетат-индуковани протеин 1
NPR	Natriuretic peptide receptors	Рецептори за натриуретске пептиде
NPR-A	Natriuretic peptide receptors A	Рецептори за натриуретске пептиде А
NPR-B	Natriuretic peptide receptors B	Рецептори за натриуретске пептиде Б
NPR-C	Natriuretic peptide receptors C	Рецептори за натриуретске пептиде Ц
NTB	Nitro blue tetrazolium	Нитро тетразолијево плаво
NO	Nitric oxide	Азот монооксид
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superoxide anion radical	Супероксид ањон радикал
OH•	Hydroxyl radical	Хидроксил радикал
pCAT	Peroxisomal catalase	Пероксизомална каталаза
PDEs	Phosphodiesterases	Фосфодиестеразе
pGC	Particulate guanylyl cyclase	Партикуларна гуанилил циклаза
PI3K	Phosphatidylinositol 3 kinase	Фосфатидилинозитол 3 киназа
PKA	Protein kinase type A	Протеин киназа типа А
PKC	Protein kinase type C	Протеин киназа типа Ц
PKGs	cGMP-dependent protein kinases	cGMP-зависне протеин киназе
Prx	Peroxiredoxin	Пероксиредоксин
PUFAs	Polyunsaturated fatty acids	Полинезасићене масне киселине
PUMA	p53 upregulated modulator of apoptosis	p53 модулатор апоптозе
PWDd	Left ventricle posterior wall diameter in diastole	Дебљина задњег зида у дијастоли
PWDd	Left ventricle posterior wall diameter in systole	Дебљина задњег зида у систоли

RAAS	Renin-angiotensin-aldosterone system	Систем ренин-ангиотензин-алдостерон
RAPGEF4	Rap guanine nucleotide exchange factor 4	Фактор 4 размјене Rap гуанин нуклеотида
RNS	Reactive nitrogen species	Реактивне азотне врсте
ROS	Reactive oxygen species	Реактивне кисеоничне врсте
RyR2	Ryanodine receptor 2	Рианодински рецептор 2
SAH	S-adenosyl homocysteine	S-аденозил хомоцистеин
SAM	S-adenosyl methionine	S-аденозилметионин
SERCA2	Sarcoplasmic reticulum Ca <sup>2+</sup> -adenosine triphosphatase 2	Ca <sup>2+</sup> -аденозин трифосфатаза 2 саркоплазматског ретикулума
SERCA2a	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca <sup>2+</sup> ATP-ase 2a	Ca <sup>2+</sup> АТФ-аза 2a саркоплазматског/ендоплазматског ретикулума
sGC	Soluble guanylyl cyclase	Солубилна гуанилил циклаза
SNS	Sympathetic nervous system	Симпатички нервни систем
SOD	Superoxyde dismutase	Супероксид дисмутаза
SR	Sarcoplasmic reticulum	Саркоплазматски ретикулум
SV	Stroke volume	Ударни волумен
T2DM		Дијабетес мелитус тип 2
tHcy	Total homocysteine	Укупни хомоцистеин
TLR	Toll-like receptor	Толични рецептор
TNFR1	TNF- $\alpha$ receptor 1	TNF- $\alpha$ рецептор 1
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor- $\alpha$	Фактор некрозе тумора- $\alpha$
TRAIL	TNF-related apoptosis inducing ligand	Лиганд који индукује TNF-везану апоптозу
TRAIL 1 / 2	TRAIL receptor 1 / 2	TRAIL рецептор 1 / 2
Trx	Thioredoxin	Тиоредоксин
TTS	Tacotsubo syndrome	Такотсубо синдром
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1	Васкуларни ћелијски адхециони молекул
VLDL	Very low density lipoprotein	Липопротени веома мале густине
VLDL	Very low density lipoprotein	Липопротеини веома мале густине

EDV	End-diastolic volume	Енд-дијастолни волумен
ONOO <sup>-</sup>	Peroxynitrite	Пероксинитрит

## **БИОГРАФИЈА**

Зорислава Бајић рођена је 02.10.1978. године у Бањој Луци. Основну школу и Гимназију завршила у родном граду. Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци уписала је 1997. године, а дипломирала у октобру 2005. године са просјечном оцјеном 8.70. Од децембра 2005. године запослена на Катедри за физиологију Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци.

Постдипломски студиј „Биомедицинска истраживања“ уписала 2005/2006. године на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци и током студија имала просјек оцјена 9.90. Магистарски рад под називом „Утицај аеробне физичке активности на коштани метаболизам у тјелесну композицију“ одбранила 07.09.2011. године, те стекла звање магистар медицинских наука.

Студијски програм III циклуса Биомедицинских наука на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци уписала је школске 2019/2020. године и током студија имала просјек оцјена 9.89.

Аутор је и коаутор већег броја научних и стручних радова објављених у међународним и домаћим часописима и учесник међународних и домаћих научних и стручних скупова.

Удата је и мајка три кћерке.

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем  
да је докторска дисертација

Наслов рада "Ефекти лираглутида на функционалне и биохемијске промјене срца у експерименталном моделу оштећења миокарда изазваног изопренилином"

Наслов рада на енглеском језику "The effects of liraglutide on functional and biochemical changes in an experimental model of myocardial injury induced by isoprenaline"

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци, дана 14.02.2023. године

Потпис докторанта  
Зорислава Бајић



## Изјава 2

### Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом "Ефекти лираглутида на функционалне и биохемијске промјене срца у експерименталном моделу оштећења миокарда изазваног изопреналином"

која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

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

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (*Creative Commons*) за коју сам се одлучио/ла.

- Ауторство
- Ауторство – некомерцијално
- Ауторство – некомерцијално – без прераде
- Ауторство – некомерцијално – дијелити под истим условима
- Ауторство – без прераде
- Ауторство – дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Бањој Луци, дана 14.02.2023. године

Потпис докторанта  
Зорислава Бајић



### Изјава 3

#### Изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора	Зорислава Бајић
Наслов рада	"Ефекти лираглутида на функционалне и биохемијске промјене срца у експерименталном моделу оштећења миокарда изазваног изопреналином"
Ментор	Проф. др Драган Ђурић
Коментор	Проф. др Милош Стојиљковић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци, дана 14.02.2023. године

Потпис докторанта  
Зорислава Бајић

