

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Ana P. Ilić

**EFEKTI MODULACIJE TRANSLOKATORNOG
PROTEINA I NO SINTAZE NA
FUNKCIONALNE I BIOHEMIJSKE PROMENE
SRCA U EKSPERIMENTALNOM MODELU
INFARKTA MIOKARDA IZAZVANOG
IZOPRENALINOM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Ana P. Ilić

**THE EFFECTS OF MODULATION OF
TRANSLOCATOR PROTEIN AND NO
SYNTHASE ON FUNCTIONAL AND
BIOCHEMICAL CHANGES OF THE HEART IN
THE EXPERIMENTAL MODEL OF
MYOCARDIAL INFARCTION INDUCED BY
ISOPRENALINE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

Mentor doktorske disertacije: Prof. dr Dragan Đurić, redovni profesor na Katedri za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan“, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor doktorske disertacije: Prof. dr Vera Čelić, redovni profesor na Katedri za internu medicinu, KBC “Dr Dragiša Mišović-Dedinje”, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

KOMISIJA ZA OCENU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE:

1. Prof. dr Branislav Milovanović, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Marija Matić, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu

Datum odbrane: _____

Ova doktorska teza je realizovana u:

- *Laboratoriji za kardiovaskularna istraživanja Instituta za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan” Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom prof. dr Dragana Đurića;*
- *Laboratoriji Instituta za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom akademika prof. dr Tatjane Simić;*
- *Laboratoriji Instituta za patofiziologiju „Dr Đorđe Jovanović” Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom doc. dr Novice Boričića;*
- *Laboratoriji Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković” – Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom prof. dr Biljane Božić Nedeljković.*

Doktorska teza je realizovana u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije br. 175043 i br. 200110/00402 „Efekti homocisteina i homocisteinu srodnih supstanci na kardiovaskularni sistem: uloga gasnih transmitera NO, H₂S i CO“ i potprojekta br. 00505 „Efekti modulacije translokatornog proteina i inhibicije sinteze azotnog monoksida na funkcionalne i biohemijske parametre srca u oštećenju miokarda pacova indukovano izoprenalinom”, čiji je rukovodilac prof. dr Dragan Đurić.

Zahvalnica

Zahvaljujem svom mentoru, prof. dr Draganu Đuriću na ukazanom poverenju, nesebičnoj i bezrezervnoj podršci, strpljenju, pravilnom usmeravanju, prenesenom znanju, idejama, korisnim savetima i pomoći tokom pisanja disertacije.

Zahvaljujem i svojoj komentorki, prof. dr Veri Čelić na prenesenom znanju iz oblasti kardiologije, na podršci i prijateljskim savetima tokom izrade doktorske teze.

Veliku zahvalnost izražavam članovima komisije: prof. dr Branislavu Milovanoviću, prof. dr Mariji Matić i prof. dr Vladimiru Jakovljeviću, na korisnim sugestijama koje su doprinele kvalitetu teze.

Zahvalnost izražavam i svojim dragim kolegama doc. dr Slavici Mutavdžin Krneti, doc. dr Jovani Jakovljević Uzelac i asist. dr Dušanu Todoroviću, kao i laborantima Jovanu Despotoviću i Sanji Sekulić, kao i ostalom osoblju Instituta za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan” i Instituta za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na nesebičnoj i značajnoj podršci tokom eksperimentalnog rada, kao i na tehničkoj pomoći u toku izvođenja eksperimenata.

Posebno zahvaljujem akademiku prof. dr Tatjani Simić i dr Tanji Radić na nesebičnoj pomoći u eksperimentalnom radu oko pripreme, obrade i analize, kao i dobronamernim smernicama tokom izrade ove teze.

Veliko hvala doc. dr Sanji Stanković, višem naučnom saradniku, na saradnji, podršci i značajnim savetima u toku izrade teze.

Veliko hvala prof. dr Biljani Božić Nedeljković i ostalim članovima tima Laboratorije Instituta za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu za pomoć u oblasti biohemijskih ispitivanja i svu pruženu pomoć.

Veliko hvala doc. dr Novici Boričiću i svim članovima tima Instituta za patologiju „Dr Đorđe Joannović” na pomoći oko pripreme, obrade i analize patohistoloških preparata.

Posebnu zahvalnost upućujem svom ocu koji je oduvek bio moj uzor i veliki oslonac u životu, uvek tu da savet u svom stilu, ukaže na pravi put kada je teško, na ljubavi i veri u mene.

Posebnu zahvalnost upućujem i svojoj majci koja je veliki oslonac i svakodnevna podrška jer daje vetar u leđa kada je teško, pruža praktične smernice na ovom putu i zato što je baš moja majka.

Veliko hvala mojoj Nani koja je uvek verovala u mene.

Na kraju, najveću zahvalnost dugujem svom suprugu Vladimiru koji je uvek tu da podeli sa mnom i lepe i teške trenutke, na razumevanju i bezrezervnoj podršci tokom posebno izazovnog perioda koji je pratio moje doktorske studije, a bez koga ne bih bila ovo što jesam. I najveće hvala mom sinu Luki jer je ulepšao pisanje doktorske disertacije i daje smisao mom životu.

Mojoj porodici

EFEKTI MODULACIJE TRANSLOKATORNOG PROTEINA I NO SINTAZE NA FUNKCIONALNE I BIOHEMIJSKE PROMENE SRCA U EKSPERIMENTALNOM MODELU INFARKTA MIOKARDA IZAZVANOG IZOPRENALINOM

REZIME

Cilj: Istraživanje efekata primene modulatora TSPO proteina, PK-11195 i 4'-CIDzp kao i inhibitora NO sintaze, L-NAME, na kardiometaboličke parametre, parametre oksidativnog stresa i inflamacije, biohemijske biomarkere u serumu i plazmi, kao i patohistološke promene na srcu kod pacova sa infarktom miokarda (MI) indukovanim izoprenalinom (ISO).

Materijal i metode: Istraživanje je sprovedeno tokom 3 uzastopna dana. Mužjaci pacova soja *Wistar albino* su raspodeljeni nasumično u osam grupa (osam do deset životinja u svakoj grupi): kontrolna grupa (K, fiziološki rastvor 0,9% NaCl (f.r.) 0,2 mL subkutano (s.c.) dva puta u intervalu od 24 h), eksperimentalna grupa I (ISO, 85 mg/kg telesne mase (t.m.) u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h), eksperimentalna grupa IFR (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h i f.r. 0,5 mL intraperitonealno (i.p.)), eksperimentalna grupa ILN (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h i L-NAME, 50 mg/kg t.m. u f.r. intraperitonealno (i.p.)), eksperimentalna grupa IP (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h, i PK-11195, 5 mg/kg t.m. u f.r., i.p.), eksperimentalna grupa IPLN (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h, PK-11195, 5 mg/kg t.m. u f.r., i.p., i L-NAME, 50 mg/kg t.m. u f.r. i.p.), eksperimentalna grupa IC (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h, i 4'-CIDzp, 0,5 mg/kg t.m. u f.r., i.p.), eksperimentalna grupa ICLN (ISO, 85 mg/kg t.m. u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h, 4'-CIDzp, 0,5 mg/kg t.m. u f.r., i.p. i L-NAME, 50 mg/kg t.m. u f.r. i.p.). Određivani su kardiometabolički biomarkeri u serumu: koncentracija visoko senzitivnog troponina T (hsTnT), aktivnost laktat dehidrogenaze (LDH), kreatin kinaze (CK), aspartat aminotransferaze (AST), koncentracija homocisteina (Hcy), ukupnog holesterola (TH), lipoproteina velike gustine (HDL), triglicerida (TG); hemostatski biomarkeri u plazmi: koncentracija fibrinogena (FIB) i von Willebrandovog faktora (vWF); kao i hepato-renalno-pankreatični biomarkeri u serumu: koncentracija uree, kreatinina, mokraćne kiseline (MK), ukupnih proteina, albumina, aktivnost alanin aminotransferaze (ALT), alkalne fosfataze (ALP) i alfa amilaze (α -AMY) i markeri inflamacije: interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 10 (IL-10) i faktor nekroze tumora alfa (TNF- α). U homogenatu tkiva srca određivani su parametri oksidativnog stresa: aktivnost enzima glutacion peroksidaze (GPx) i superoksid dismutaze (SOD), koncentracija glutationa, i ukupna S – glutationilacija proteina. Pored toga, za patohistološku analizu korišćeno je tkivo srca.

Rezultati: Aplikovanje izoprenalina je dovelo do pojave difuznog transmuralnog infarkta sa povećanim koncentracijama hsTnT i Hcy, značajnim smanjenjem telesne mase i povećanjem kardiosomatskog indeksa (KSI), i smanjilo je koncentraciju LDH i AST. Primena ISO je dovela do povećanja koncentracije FIB i smanjenja koncentracije TH, HDL i TG. Primena ISO nije uticala na CK i vWF, kao i na parametre bubrežne funkcije, mokraćne kiseline (MK), uree i kreatinina. Koncentracija albumina u serumu je bila povećana, dok je koncentracija TP bila smanjena nakon aplikacije ISO. Primena ISO je bila praćena promenama u markerima inflamacije, povećanjem koncentracije TNF- α i smanjenjem koncentracije IL-10, dok su koncentracije IL-1 β i IL-6 ostale nepromenjene nakon primene ISO. Aktivnost GPx i SOD kao i koncentracija glutationa nije imala značajne promene nakon primene ISO. Ukupna S-glutationilacija je bila povećana usled primene ISO. Zajednička primena PK-11195 i L-NAME povećala je koncentraciju hsTnT, AST, Hcy, TH, FIB, kreatinina, MK, UP, IL-10 i SOD, a smanjila je koncentraciju LDH, HDL, uree, ALB, TNF- α , IL-6 i GPx. Efekti PK-11195 su se odrazili na smanjenje koncentracije hsTnT i povećanje koncentracije Hcy, promene u lipidnom statusu i na parametre hepato-renalno-pankreatične funkcije kao i na markere inflamacije, određene parametre oksidativnog stresa i hemostatske parametre. Takođe, primena PK-11195 nije pokazala značajnu patohistološku promenu u tkivu srca. Primena 4'-CIDzp se ogleda u značajnoj redukciji infarktne polja, kao i smanjenju određenih markera ishemije

miokarda, parametara oksidativnog stresa i inflamacije. Takođe, nakon primene 4'-CIDzp se beleži značajno smanjenje Hcy. Pored toga, 4'-CIDzp utiče na određene parametre hepato-renalno-pankreatične funkcije, dok na hemostatske parametre nije pokazao uticaj. Ovaj efekat je delimično poništen zajedničkom primenom L-NAME. Efekat aplikacije L-NAME nije pokazao značajne protektivne efekte, što se ogleda u brojnim ispitanim parametrima tokom ovog istraživanja.

Zaključci: Modulacija TSPO sa 4'-CIDzp u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda indukovano izoprenalinom se ogleda u značajnim protektivnim efektima na kardiometaboličke parametre, parametre oksidativnog stresa kao i na markere inflamacije i redukcijom infarktne polja, dok primena PK-11195 i L-NAME ili kombinovana primena nije imala pozitivan efekat na ove parametre u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda indukovano izoprenalinom.

Ključne reči: infarkt miokarda, izoprenalin, 4'-CIDzp, PK-11195, L-NAME, metabolizam srca, biohemijski markeri, oksidativni stres, markeri inflamacije, veličina infarktne polja, pacov.

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Fiziološke nauke

UDK br: _____

THE EFFECTS OF MODULATION OF TRANSLOCATOR PROTEIN AND NO SYNTHASE ON FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL CHANGES OF THE HEART IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF MYOCARDIAL INFARCTION INDUCED BY ISOPRENALINE

SUMMARY

Objective: Investigation of the effects of TSPO protein modulators, PK-11195, and 4'-CIDzp, as well as NO synthase inhibitor, L-NAME, on cardiometabolic parameters, parameters of oxidative stress and inflammation, biochemical biomarkers in serum and plasma, as well as pathohistological changes in the heart in rats with isoprenaline (ISO)-induced myocardial infarction (MI).

Material and methods: The research was conducted over 3 consecutive days. Male Wistar albino rats were randomly divided into eight groups (eight to ten animals in each group): control group (K, saline solution 0.9% NaCl (saline) 0.2 mL subcutaneously (sc.) twice at an interval of 24h), experimental group I (ISO, 85 mg/kg body weight (b.w.) in 1 mL saline solution, sc. twice at an interval of 24h), experimental group IFR (ISO, 85 mg/kg b.w. in 1 mL saline solution, sc. twice at an interval of 24h plus saline 0.5 mL intraperitoneally (ip.)), experimental group ILN (ISO, 85 mg/kg body weight in 1 mL saline solution, sc. twice at an interval of 24h plus L-NAME, 50 mg/kg b.w. in saline ip.), experimental group IP (ISO, 85 mg/kg b.w. in 1 mL saline solution, sc. twice at an interval of 24h plus PK-11195, 5 mg/kg b.w. in saline ip.), experimental group IPLN (ISO, 85 mg/kg b.w. in 1 mL saline solution, sc. twice at an interval of 24h plus PK-11195, 5 mg/kg b.w. in saline ip. plus L-NAME, 50 mg/kg b.w. in saline ip.), experimental group IC (ISO, 85 mg/kg b.w. in 1 mL saline solution, sc. twice in an interval of 24h plus 4'-CIDzp, 0.5 mg/kg body weight. in saline i.p.), experimental group ICLN (ISO, 85 mg/kg b.w. in 1 mL saline, sc. twice at an interval of 24h plus 4'-CIDzp, 0.5 mg/kg b.w. in saline ip. plus L-NAME, 50 mg/kg b.w. ip.). Cardiometabolic biomarkers were determined in the serum: concentration of high-sensitivity troponin T (hsTnT), the activity of lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), aspartate aminotransferase (AST), the concentration of homocysteine (Hcy), total cholesterol (TH), high-density lipoprotein (HDL), triglyceride (TG), hemostatic biomarkers in plasma: concentration of fibrinogen (FIB) and von Willebrand factor (vWF); as well as hepato-renal-pancreatic serum biomarkers: concentration of urea, creatinine, uric acid (MC), total protein, albumin, the activity of alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and alpha-amylase (α -AMY), and markers inflammation: interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6), interleukin 10 (IL-10) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Oxidative stress parameters were determined in the heart tissue homogenate: activity of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD), glutathione concentration, and total S-glutathionylation protein. In addition, heart tissue was used for pathohistological analysis.

Results: Application of isoprenaline led to the occurrence of diffuse transmural infarction, increased concentrations of hsTnT and Hcy, a significant decrease in body weight, and an increase in the cardiomatic index (KSI), and decreased the concentration of LDH and AST. The application of ISO led to an increase in the concentration of FIB, and a decrease in the concentration of TH, HDL, and TG. CK and vWF were not affected by ISO administration, as well as parameters of renal function, uric acid (MC), urea, and creatinine. Serum albumin concentration was increased, while TP concentration was decreased after ISO application. Application of ISO was accompanied by changes in inflammation markers, an increase in the concentration of TNF- α , and a decrease in the concentration of IL-10, while the concentrations of IL-1 β and IL-6 remained unchanged after the application of ISO. GPx and SOD activity as well as glutathione concentration had no significant changes after ISO administration. Total S-glutathionylation was increased by ISO administration. The joint administration of PK-11195 and L-NAME increased the concentration of hsTnT, AST, Hcy, TH, FIB, creatinine, MK, UP, IL-10, and SOD, and decreased the concentration of LDH, HDL, urea, ALB, TNF- α , IL-6 and GPx. The effects of PK-11195 were reflected in a decrease in hsTnT concentration and an increase in Hcy concentration, changes in lipid status and parameters of hepato-renal-pancreatic function as well as markers of inflammation, certain parameters of oxidative stress

and hemostatic parameters. Also, the administration of PK-11195 did not show significant pathohistological changes in heart tissue. The application of 4'CIDzp is reflected in a significant reduction of the infarct field, as well as a reduction of certain markers of myocardial ischemia, parameters of oxidative stress, and inflammation. Also, after the administration of 4'CIDzp, a significant decrease in Hcy was recorded. In addition, 4'CIDzp affects certain parameters of the hepato-renal-pancreatic function, while it did not show any effect on hemostatic parameters. This effect was partially reversed by the co-administration of L-NAME. The effect of the L-NAME application did not show significant protective effects, which is reflected in several tested parameters during this research.

Conclusions: Modulation of TSPO, with 4'CIDzp in the experimental model of myocardial infarction induced by isoprenaline is reflected in significant protective effects on cardiometabolic parameters, oxidative stress parameters as well as inflammation markers and reduction of the infarct field, while the administration of PK-11195 and L-NAME or combined administration is not had a positive effect on these parameters in the experimental model of myocardial infarction induced by isoprenaline.

Keywords: myocardial infarction, isoprenaline, 4'CIDzp, PK-11195, L-NAME, cardiac metabolism, biochemical markers, oxidative stress, inflammatory markers, infarct field size, rat.

Scientific field: Medicine

Narrow scientific field: Physiological sciences

UDK No: _____

1.	Uvod	1
1.1	Infarkt miokarda	2
1.1.1	Epidemiologija, incidenca i trendovi akutnog infarkta miokarda.....	2
1.1.2	Faktori rizika	2
1.1.3	Histološke karakteristike i fiziologija endotelnih ćelija.....	5
1.1.4	Patofiziološki mehanizmi ateroskleroze	6
1.1.5	Klinički i terapijski aspekti infarkta miokarda.....	8
1.1.6	Markeri miokardne nekroze	12
1.1.7	Kardiovaskularni markeri	13
1.1.8	Oksidativni stres i oksidativni markeri u infarktu miokarda.....	14
1.1.9	Inflamacija i markeri u infarktu miokarda	18
1.2	Animalni modeli infarkta miokarda	20
1.2.1	Izoprenalinom indukovani MI.....	21
1.2.2	Translokatorni protein.....	22
1.2.3	Građa i uloga mitohondrija	23
1.2.4	Mitohondrijalna permeabilizacijska pora i TSPO.....	24
1.2.5	TSPO i oksidativni stres.....	25
1.2.6	TSPO ligandi.....	27
2.	Ciljevi istraživanja	29
3.	Materijal i metode.....	31
3.1	Eksperimentalne životinje	32
3.2	Eksperimentalne grupe	32
3.3	Indukcija infarkta miokarda kod pacova	33
3.4	Varijable praćene u protokolu	33
3.4.1	Određivanje biohemijskih parametara u serumu i plazmi	33
3.4.2	Određivanje nivoa citokina u serumu	34
3.4.3	Kardiosomatski indeks.....	34
3.4.4	Priprema tkiva srca za biohemijske analize	34
3.4.5	Određivanje aktivnosti superoksid dismutaze.....	34
3.4.6	Određivanje aktivnosti glutacion peroksidaze (GPx).....	34
3.4.7	Određivanje koncentracije oksidovanog (GSSG) i ukupnog glutaciona (GSH)	35
3.4.8	Određivanje ukupne S- glutationilacije proteina u tkivu srca pacova	35
3.4.9	Histološka i morfometrijska analiza	35
3.5	Hemikalije i potrošni materijal.....	36
3.6	Statistička analiza	36
4.	Rezultati.....	37
4.1	Mortalitet.....	38
4.2	Promene telesne mase	39
4.3	Kardiosomatski indeks i razlike između eksperimentalnih grupa životinja.....	41
4.4	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina.....	42

4.4.1	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere ishemije miokarda	42
4.4.2	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na kardiovaskularne biomarkere u serumu/plazmi	45
4.4.3	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu	46
4.4.4	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere inflamacije ..	47
4.4.5	Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere oksidativnog stresa	50
4.4.6	Determinacija ukupne S-glutationilacije u kontrolnoj grupi i grupi tretiranoj izoprenalinom	52
4.4.7	Histološka analiza uzoraka tkiva srca u kontrolnoj grupi i grupi tretiranoj izoprenalinom	54
4.5	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME.....	56
4.5.1	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere ishemije miokarda u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda.....	56
4.5.2	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na kardiovaskularne biomarkere u serumu i plazmi u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda	60
4.5.3	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda	61
4.5.4	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere inflamacije u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda	63
4.5.5	Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere oksidativnog stresa u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda.....	67
4.5.6	Determinacija ukupne S-glutationilacije nakon samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda.....	69
4.5.7	Histološka analiza uzoraka tkiva srca nakon samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda.....	71
4.6	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME....	73
4.6.1	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere ishemije miokarda u ISO indukovanom infarktu miokarda.....	73
4.6.2	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na kardiovaskularne biomarkere u serumu i plazmi u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom	76
4.6.3	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom	78
4.6.4	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere inflamacije u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom.....	80
4.6.5	Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere oksidativnog stresa u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom.....	84
4.6.6	Determinacija ukupne S-glutationilacije nakon samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom	86

4.6.7	Histološka analiza uzoraka tkiva srca nakon samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom	88
5.	Diskusija	90
6.	Zaključci	100
7.	Literatura.....	104

1. Uvod

1.1 Infarkt miokarda

Akutni infarkt miokarda (engl. *acute myocardial infarction* – AMI) predstavlja nekrozu kardiomicita uzrokovanu produženom ishemijom, koja nastaje usled neravnoteže između potreba miokarda za kiseonikom i miokardne snabdevenosti kiseonikom, što rezultuje hipoksijom i povećanim nakupljanjem toksičnih metabolita, najčešće usled ateroskleroze (Hegstad et al., 1994).

Tokom poslednjih 45 godina razumevanje uzroka, dijagnoze i lečenja AMI se značajno promenilo. Početkom 20. veka AMI je smatran fatalnom dijagnozom koja je postavljana tokom autopsije. Od tada je prikupljeno mnogo informacija koje su značajno izmenile naše razumevanje patogeneze i izmenile naš pristup postavljanju dijagnoze kao i samog lečenja.

1.1.1 Epidemiologija, incidenca i trendovi akutnog infarkta miokarda

Ishemijska bolest srca (engl. *ischemic heart disease* – IHD), posebno AMI, predstavlja jedan od vodećih uzroka smrti širom sveta (Murray et al., 2015). Od svih kardiovaskularnih bolesti, otprilike jedna trećina do 50% jeste uzrokovana IHD (Rosamond et al., 2008; Nichols et al., 2014). Koronarna arterijska bolest (engl. *coronary artery disease* – CAD) klinički se prikazuje kao infarkt miokarda i ishemijska kardiomiopatija. Ateroskleroza predstavlja inflamatornu bolest arterija povezanu sa pojačanim nakupljanjem lipida i metaboličkim alteracijama usled mnogobrojnih faktora rizika, što vodi ka IHD. Više od 70% ljudi ima multiple faktore rizika za IHD, a samo 2%–7% opšte populacije nema faktore rizika (Sampasa-Kanyinga and Lewis, 2015). Usled povećanog broja ljudi sa gojaznošću, dijabetesom, metaboličkim sindromom, kao i usled opšteg starenja populacije, očekuje se povećana incidenca IHD (UN, 2019). Od 1990. do 2000. godine, smrtnost usled AMI je povećana za 50%. Framingham kohortna studija tokom 44 godine praćenja je pokazala da je životni rizik od razvijanja IHD 49% i 32% za muškarce i žene starosti 40 godina.

Khan i saradnici su sprovedi studiju analizom retrospektivnih podataka od 1990. do 2017. širom sveta (Khan et al., 2020). IHD je zabeležena kod 126 miliona ljudi širom sveta (1655 na 100000), što se procenjuje da je 1,72% populacije širom sveta. U 2017. godini, oko devet miliona uzroka smrti bilo je usled IHD, što predstavlja vodeći uzrok smrtnog ishoda širom sveta.

Nevezano za pol, incidenca raste zajedno sa godinama, iako žene kasnije oboljevaju od muškaraca, deset godina za bilo koji koronarni događaj, i 20 godina kada su u pitanju ozbiljne manifestacije koronarne bolesti, poput AMI i naprasne srčane smrti, a kako ljudi stare, sa godinama se incidenca među polovima smanjuje (Lloyd Jones et al., 2010). Incidenca među ženama starosne dobi 65–94 godine se trostruko povećava u poređenju sa ženama starosti 35–64 godina, i duplirala se kod muškaraca. Incidenca i ozbiljnost koronarnog događaja se trostruko povećala za žene istog uzrasta koje su u menopauzi. Između 1990. i 2020. mogao bi se očekivati porast smrtnosti od koronarne bolesti srca za skoro 29% i 48%, za žene i muškarce iz razvijenih zemalja, a za žene i muškarce u zemljama u razvoju, procenjeni porast smrtnosti je bio 120% i 137% (Yusuf et al., 2001).

U Kini, zajedno sa razvijanjem ekonomije, dolazi i do epidemiološke promene. Svake godine, više od 1.000.000 ljudi umire usled IHD, gde je mortalitet usled IHD dvostruko veći tokom prethodnih 20-ak godina (Yang et al., 2013; Omran, 1971). Broj obolelih sa AMI će se povećati na skoro 23 miliona do 2030. godine, na osnovu proračuna Svetske banke (Lin et al., 2022), sa trendom ubrzanja.

1.1.2 Faktori rizika

Preko 50% uzroka kardiovaskularnog mortaliteta čine pet glavnih faktora rizika prema izveštajima tri opservacione studije: 1. sistolni krvni pritisak > 140mmHg/dijastolni krvni pritisak > 90mmHg; 2. totalni holesterol \geq 240 mg/dl (\geq 6,22 mmol/L); 3. Dijabetes; 4. gojaznost i 5. pušenje (Patel et al., 2015). Procena ovih 5 glavnih faktora rizika je rađena u Framingham srčanoj studiji (engl. *Framingham Heart Study*) i u trećoj Nacionalnoj anketi o zdravlju i ishrani (engl. *Third National Health and Nutrition Examination Survey* – NHANESIII), gde je posmatrana frekvencija kao prediktivna vrednost ovih faktora. Za svaki od ovih faktora rizika su posmatrane tri kategorije –

optimalna, granična i povišena. 26% muškaraca i 41% žena je imalo najmanje jedan granični faktor rizika u NHANESIII. Procenjeno je da će se javiti više od 90% događaja usled IHD, koji imaju najmanje 1 povišeni faktor rizika, jedan približno kod 8% ljudi će se desiti neki događaj vezan za IHD koji imaju granično povišene multiple faktore rizika (Vasan et al., 2005).

Povišen arterijski pritisak je jedan od glavnih faktora rizika za kardiovaskularne bolesti (engl. *cardiovascular disease – CVD*), uključujući koronarnu bolest, srčanu slabost, atrijsku fibrilaciju, naprasnu srčanu smrt, bubrežnu slabost, perifernu arterijsku bolest kao i smanjenje kognitivnih funkcija (Whelton et al., 2017). Prema najnovijim smernicama Sjedinjenih Američkih Država (engl. *United States of America – USA*), hipertenzija se definiše kao povišen arterijski krvni pritisak > 130/80mmHg, dok smernice Evropskog udruženja kardiologa (ESC) definišu arterijski krvni pritisak malo drugačije, veći od 140/90 mmHg. Važnu ulogu u regulaciji arterijskog pritiska ima renin-angiotenzin-aldosteron sistem (engl. *Renin-Angiotensin-Aldosterone System – RAAS*), gde se od prorenina pod dejstvom katepsina B sintetiše renin, a on pretvara angiotenzinogen u angiotenzin I (Ang I), koji se dalje pod uticajem angiotenzin konvertujućeg enzima (ACE) pretvara u angiotenzin II (Ang II). Primarno Ang II delujući na Ang II tip 1 receptore (AT1R), dovodi do vazokonstrikcije glatkih mišićnih ćelija i posledično do sistemske vazokonstrikcije i povećava reapsorpciju natrijuma (Na⁺) u proksimalnim tubulima bubrega. Ang II je povezan za endotelnom disfunkcijom, inflamacijom i fibrozom. Stimulacijom angiotenzin II tip 2 receptora (AT2R) dolazi do vazodilatacije, natriureze i antiproliferativnih efekata. Aldosteron takođe ima važnu ulogu u nastanku hipertenzije, tako što utiče na reapsorpciju Na⁺. Povećana aktivnost simpatičkog nervnog sistema (engl. *Sympathetic Nervous System – SNS*) dovodi do retencije Na⁺, vazokonstrikcije, endotelne disfunkcije, proliferacije glatkih mišićnih ćelija i na kraju do arterijske krutosti. Tokom 2015. godine, povišen arterijski pritisak je bio treći vodeći faktor rizika za invalidnost prilagođenu godinama tokom života (engl. *Disability adjusted life-years – DALYs*) bez obzira na pol, i na drugom mestu faktor rizika za invalidnost usled kardiovaskularnih bolesti. Pacijenti koji imaju hipertenziju imaju veći životni rizik za razvijanje CVD. INTERHEART studija je pokazala da je populaciji koja je u riziku od AMI, hipertenzija doprinela 18% (Yusuf et al., 2004). Riziko faktori su i trajanje i stepen hipertenzije.

Insulinska rezistencija i dijabetes predstavljaju jedne od vodećih faktora rizika za CVD. Više od jedne trećine odraslih u USA (oko 88 miliona ljudi) ima neki stepen intolerancije glukoze ili predijabetes, koji zajedno sa gojaznošću značajno povećava rizik za dijabetes tip 2 i aterotrombozu (Arnett et al., 2019). Aterosklerotska kardiovaskularna bolest (engl. *atherosclerotic cardiovascular disease – ASCVD*) je povezana sa insulinskom rezistencijom, hiperinsulinemijom kao i povišenim nivoima glukoze u krvi (Kannel and McGee 1979; Singer et al., 1992; Almdal et al., 2004; Al-Delaimy et al., 2004; Virani et al., 2023). U INTERHEART studiji, dijabetes je doprineo 10% razvoju prvog AMI, u populaciji sa rizikom (Yusuf et al., 2004). Povećano opterećenje hipertenzijom, gojaznošću, povećanim odnosom ukupnog holesterola prema lipoproteinskom holesterolu velikih gustina (engl. *high-density lipoprotein cholesterol – HDL*), hipertrigliceridemijom, kao i povišenim nivoima fibrinogena, je primećeno kod dijabetičara u poređenju sa nedijabetičarima. Prema smernicama za CVD kod pacijenata sa dijabetesom tip 2 (Miura et al., 2001; Kelsey et al., 2022), visoko-rizični pacijenti zahtevaju agresivniju kontrolu faktora rizika, poput arterijskog pritiska, LDL-a i nivoa glikemije.

Među glavnim faktorima rizika takođe spada i visok ukupni holesterol kao i visok lipoproteinski holesterol niske gustine (engl. *low-density lipoprotein cholesterol – LDL*). U INTERHEART studiji, dislipidemija je doprinela sa 49% u riziku od nastanka AMI, što je definisano odnosom apolipoproteina B prema apolipoproteinu A1 (Yusuf et al., 2004). Snižavanje vrednosti LDL holesterola jeste jedna od bitnih stavki u merama prevencije. U sekundarnoj prevenciji preporučene su vrednosti LDL holesterola < 1,4 mmol/L ili smanjenje ≥ 50% u odnosu na bazalne vrednosti (Visseren et al., 2021). Statini predstavljaju terapiju za snižavanje vrednosti LDL holesterola. Ukoliko oni nisu delotvorni, tačnije ne postižu se ciljane vrednosti LDL holesterola, kao dodatna terapija koriste se hipolipemici (ezetimib) ili inhibitori proprotein konvertaze subtilizin/keksin tip 9 (engl. *proprotein convertase subtilisin kexin 9 – PCSK9*). Lipoproteinski holesterol velike gustine (engl. *non high-density lipoprotein cholesterol – non HDL*) sadrži aterogene lipoproteine, poput apo B

lipoproteina u plazmi, i računa se na osnovu formule: ukupni holesterol – HDL. Smanjen udeo HDL holesterola u ukupnom holesterolu predstavlja podjednako važan faktor rizika za CVD kao i povećana koncentracija LDL holesterola. Merenje nivoa nonHDL holesterola je isto kao i merenje apoB lipoproteina u plazmi, i predstavlja snažan prediktor za budući CVD događaj (Pencina et al., 2019). Ciljane vrednosti nonHDL holesterola treba da budu $< 2,2$ mmol/L, te se kod bolesnika sa dijabetesom, hipertrigliceridemijom, gojaznih ili sa niskim vrednostima LDL holesterola može koristiti za procenu CVD rizika. Lipoprotein (a) (Lp(a)) ima proaterogene i prokoagulantne efekte, najverovatnije usled slične strukture kao plazminogen, i ima proinflamatorne efekte najverovatnije usled nosača oksidovanog fosfolipida (van der Valk et al., 2016). Visoke koncentracije Lp(a) povezane su sa povećanim rizikom za ASCVD (Clarke et al., 2009). Hipertrigliceridemija takođe predstavlja jedan od važnih faktora rizika za nastanak ili pogoršanje CVD, ali je slabiji prognostički marker od LDL holesterola. Vrednosti triglicerida našte $> 1,7$ mmol/L jesu faktor rizika za nastanak CVD (Task Force Members; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); ESC National Cardiac Societies, 2019).

Gojaznost je isto jedan od faktora rizika za aterosklerozu, arterijsku hipertenziju, IHD, intoleranciju glukoze, insulinsku rezistenciju, hipertrigliceridemiju i anksioznost (Eckel et al., 2004; Tirosh et al., 2011). Pomoću telesne mase i telesne visine može se izračunati indeks telesne mase (*engl. Body Mass Index – BMI*), gde se $BMI \geq 25$ kg/m² smatra prekomernom težinom, $BMI \geq 30$ kg/m² definiše gojaznost, dok se $BMI \geq 35$ kg/m² smatra prekomernom gojaznošću. Pomoću BMI može se izmeriti stepen rizika od IHD i cerebrovaskularnih bolesti, uzimajući u obzir naravno i druge faktore rizika (Wilson et al., 2008). Rizik od CVD se povećava linearno sa BMI (Jensen et al., 2014; Twig et al., 2016).

U izveštaju Ministarstva zdravlja USA 2020. godine, korišćenje duvana je i dalje najvažniji preventabilni uzrok smrti i invalidnosti u USA. Pušenje duplira incidencu koronarne bolesti i povećava mortalitet usled koronarne bolesti za više od 50%, a kako rastu godine i broj konzumiranih cigareta, tako se povećava rizik. Dalje, pušenje je povezano sa većom stopom rekurentnih AMI, naprasne srčane smrti, rupture aortne aneurizme, simptomatske periferne arterijske bolesti, ishemijskog i hemoragijskog moždanog udara, hirurške revaskularizacije miokarda kao i perkutane revaskularizacije miokarda (Andersson and Vasan, 2018; Haque and Bhargava, 2022; Criqui and Aboyans, 2015; Pan et al., 2019; Duggan et al., 2022). Kod mlađih žena, pušenje zajedno sa oralnim kontraceptivima povećava rizik od venskog tromboemolizma. Neželjeni događaji usled pušenja se mogu objasniti odgovarajućim mehanizmima poput pušenjem indukovano povećanja krvnog pritiska i vaskularnog tonusa, spazma koronarnih krvnih sudova, endotelne disfunkcije, sistematskih proinflamatornih efekata, povećane agregacije trombocita kao i insulinske rezistencije (Ambrose and Barua, 2004; Keith et al., 2016).

Dokazano je da je bubrežna slabost blagog do umerenog stepena povezana sa značajnim povećanjem rizika od IHD, što se odnosi i na terminalnu bubrežnu slabost (Gansevoort et al., 2013; Matsushita et al., 2022; Gaziano et al., 2022).

Primećeno je da pol takođe ima ulogu kao faktor rizika za razvoj CVD, kao i IHD. Tačni mehanizmi nisu još razjašnjeni, no muški pol sam po sebi doprinosi riziku od IHD. Nekoliko studija je istaklo da je muški pol faktor rizika za veću šansu za CVD, s tim da se taj rizik smanjuje sa starenjem (Gao et al., 2019). Kappert i saradnici su pokazali da osobe ženskog pola imaju 20% manju šansu u poređenju sa osobama muškog pola za razvijanje CVD, uključujući AMI, srčanu smrt i srčanu slabost poređenjem između grupa (Berlaimont et al., 2008; Bloch et al., 2008).

Porodična anamneza sama po sebi takođe prestavlja jedan od faktora rizika za CVD, posebno kod mlađe populacije sa pozitivnom porodičnom anamnezom za CVD (Sesso et al., 2001; Murabito et al., 2005; Otaki et al., 2013). Načelno, poznato je da rođaci prvog stepena, poput roditelja, braće/sestara, koji imaju CVD ili su preminuli usled CVD, predstavljaju značajno opterećenje i faktor rizika, čak i za osobe mlađe od 55 godina muškog pola, odnosno mlađe od 65 godina ženskog pola (Patel et al., 2018).

1.1.3 Histološke karakteristike i fiziologija endotelnih ćelija

Endotel je jednoslojni ćelijski prekrivač i oblaže celokupni vaskularni sistem. Predstavlja površni deo zida krvnog suda koji je u direktnom kontaktu sa krvlju i njenim elementima, sa jedne strane, i glatkim mišićnim ćelijama, sa druge strane. Funkcionalno i strukturno intaktan, održava balans endotelnih relaksirajućih i kontraktilnih faktora, anti i proinflamatornih medijatora, kao i prokoagulantne i antikoagulantne aktivnosti (Gross and Aird, 2000).

Različitim mehanizmima prilagođavanja, endotel nastoji da kompenzuje mehanička i hemijska oštećenja zidova krvnih sudova. Gubitak kontrole nad tim reparacijskim procesima za posledicu ima nastanak endotelne disfunkcije (engl. *endothelial cell dysfunction* – ECD) (Gimbrone et al., 2016). Strukturna promena u endotelnim ćelijama, gubitak integriteta ili ekspresija prokoagulantnih faktora, zajedno su u osnovi ECD, što se može primetiti u aterosklerozi (Ross and Glomset 1973; Gimbrone, 1980).

ECD predstavlja sponu između kardiovaskularnih rizičnih činioca, razvoja i toka većine kardiovaskularnih bolesti (MacCarthy and Shah, 2000).

Endotelne ćelije sadrže mnoge organele, poput mitohondrija, mikrotubula, mikrofilamenata, kao i veliki broj pinocitoznih vezikula. Ono po čemu se one identifikuju jesu Weibel-Paladeova telašca. Pretpostavlja se da ova telašca potiču iz Goldžijevog aparata i da su uključena u proces hemostaze. Površina endotelnih ćelija poseduje odgovarajuće karakteristike, kao što su netrombogena, adhezivna i kohezivna svojstva (De Caterina et al., 2007). Endotel je prekriven glikokaliksom koji se sastoji od preteoglikana, glikoproteina i solubilnih proteina. Proteoglikani i glikoproteini vežu glikokaliks za endotel formirajući matriks koji sadrži solubilne čestice. Glikokaliks u interakciji sa komponentama plazme (albumini, orosomukoid, itd.) formira fiziološki aktivan, tanak sloj endotela poznat kao endotelni površinski sloj. Glikokaliks se nalazi na luminalnom delu endotela i reguliše vaskularnu permeabilnost. Adhezivna unutrašnja površina spojena je sa vezivnim tkivom subendotelnih delova. Kohezivna površina endotelnih ćelija nalazi se na mestima međućelijskih veza.

Postoji nekoliko tipova endotelnih ćelija (Aird, 2007):

1. Tip I – ćelije sa kontinuiranom bazalnom membranom. Tip Ia ima kontakte sa pericitima; tip Ib predstavlja tesne veze između ćelija. Nalazi se u mozgu, skeletnim mišićima, miokardu, plućima i koži.
2. Tip II – ćelije sa fenestriranom bazalnom membranom. Tip IIA se nalazi između endotelnih ćelija u endokrinim žlezdama, tip IIB u kapilarima glomerula.
3. Tip III – ćelije sa diskontinuitetom u nizu na bazalnoj membrani. Tip IIIa se nalazi u sinusoidima jetre, a tip IIIb u sinusoidima slezine.

Endotelne ćelije učestvuju u nizu različitih procesa: sintezi i oslobađanju azot monoksida, prostaciklina, endotelina, trombokšana, cikličnog guanozin monofosfata GMP (cGMP), adenzina, sintezi i ekspresiji adhezivnih molekula, sintezi hemotaksičnih supstanci, faktora rasta (bFGF i PDGF), faktora stimulacije kolonija (M-CSF, GM-CSF), proteina C, tkivnog faktora, tkivnog plazminogen aktivatora (t-PA), plazminogen aktivator inhibitora (PAI-1), sintetišu i izlučuju različite faktore, kao npr. mukopolisaharide, trombodulin, proteoglikane, von Willebrandov faktor (vWF), faktor aktivacije trombocita (PAF), antioksidantne enzime, metabolišu serotonin (5-hidroksitriptamin) i noradrenalin, razgrađuju bradikinin i pretvaraju Ang I u Ang II pomoću ACE (Pearson, 1991; Pearson, 1994). Zbog njegove anatomske pozicije i sposobnosti da reaguje na mehaničke i hemijske promene kao i humoralnu okolinu (cirkulišući ili lokalno produkovani amini, peptidi, proteini, nukleotidi, slobodni radikali i drugo), kao i da ove promene kratkotrajno (kompezatorna podešavanja vaskularnog tonusa) ili dugotrajno reguliše (strukture), vaskularni endotel ima krucijalnu ulogu u održavanju kardiovaskularne homeostaze.

Azot monoksid (NO) se sintetiše iz aminokiseline L-arginina, pod dejstvom azot monoksid sintaze (NOS), i zajedno čine endogeni nitrovazodilatatorni sistem koji održava kardiovaskularni sistem u stanju aktivne vazodilatacije, a u skladu sa metaboličkim potrebama (Knowles and Moncada 1994; Sessa et al., 1992). NO produkuje intaktan endotel arterija, arteriola i kapilara i deluje kao

sekundarni glasnik koji stimulira guanilnu ciklazu, vezujući se za molekul hema, što povećava koncentraciju cGMP, i posleđično smanjuje koncentraciju kalcijuma u ciljanim ćelijama, što dovodi do relaksacije glatke muskulature, inhibicije proliferacije glatke muskulature, inhibicije agregacije trombocita, inhibicije oksidacije LDL i modulacije neurotransmisije (Deanfield et al., 2007). NOS postoji u tri izoforme: neuronalna NOS (engl. *neuronal NOS* – nNOS; tip I), inducibilna NOS (engl. *inducible NOS* – iNOS; tip II), i endotelna NOS (engl. *endothelial NOS* – eNOS; tip III) (Cinelli et al., 2020). iNOS se nalazi u endotelnim ćelijama krvnih sudova, glatkim mišićima krvnih sudova, makrofazima i neuroendokrinom tkivu, kao i u kardiomiocitima. Sve tri izoforme su slični citohrom P-450 proteinu, i u reakciji zajedno sa kiseonikom i nikotinamid adenin dinukleotid fosfatom (NADPH) dolazi do oksidacije terminalnog gvanidinskog azota na L-argininu, i kao krajni produkt dobija se NO i L-citrulin (Murad, 1999; Djuric et al., 2018). NO lako stupa u reakciju sa superoksidnim anjonom, kao posledica dolazi do S-nitrozilacije proteina u tiolnim grupama, i nastaju reaktivni azotni radikali, te se može reći da koncentracija azot monoksida određuje ulogu NO – štetnu ili protektivnu ulogu NO (Johansen et al., 2005; McDonald and Murad F, 1996).

Pojačana produkcija reaktivnih kiseoničnih radikala dovodi do oštećenja NOS, smanjene oksidacije L-arginina, i povećane sinteze oksidisanih lipoproteina male gustine, što dalje vodi ka endotelnoj disfunkciji (Vergnani et al., 2000; Landmesser et al., 2002). NOS *uncoupling* je proces u kome usled nedostatka supstrata za eNOS i/ili nedostatka kofaktora tetrahidrobiopterina (THB), dolazi do produkcije superoksidnog anjona i vodonik peroksida, što vodi ka pojačanom oksidativnom stresu i endotelnoj disfunkciji (Li et al., 2011). Pokazano je da pojačana aktivnost enzima arginaza nakon ishemijske/reperfuzijske može smanjiti koncentraciju L-arginina (Hein et al., 2003). Na povećane koncentracije asimetričnog dimetilarginina (ADMA), inhibitora NO, može uticati oksidisani LDL, kod pacijenata sa drugim predisponirajućim faktorima rizika za koronarnu bolest srca (Schulze et al., 2006; Boger et al., 2001).

Prostaciklin pripada familiji prostaglandina, koji se stvaraju i u endotelnim ćelijama. Prostaciklin je vazodilatator, inhibitor agregacije trombocita, ima profibrinolitičko, citoprotektivno i antikoagulantno dejstvo (za razliku od tromboksana A₂ koji dovodi do agregacije trombocita i vazokonstrikcije), tako što aktivira enzim adenilat ciklazu i samim tim povećava intracelularnu koncentraciju cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) (Kelton and Blajchman, 1980). Endogeni hemijski stimuli iz plazme, poput bradikina i trombina, dovode do stvaranja prostaciklina. Pod dejstvom enzima fosfolipaze A₂, iz fosfolipida membrana stvara se prostaciklin. Cikloksigenaza (COX) takođe učestvuje u stvaranju prostaciklina (Vane and Corin, 2003). Za razliku od NO koji se oslobađa više abluminalno, prostaciklin se oslobađa intraluminalno. Iz ovoga proističe razlika u efektima NO i prostaciklina. Na albuminalnoj strani krvnog suda prostaciklin dovodi do relaksacije glatke muskulature, a u lumenu ima antitrombocitne i antiadhezivne efekte.

Različita tkiva mogu sekretovati endoteline (ET), poput centralnog i perifernog nervnog sistema, bubrega, pluća, srca, gastrointestinalnog sistema, nadbubrežne žlezde i oka. Nastaju iz prohormona. Familija humanog endotelina se sastoji iz tri 21-amino izopeptida: ET-1, ET-2, ET-3, koji se međusobno razlikuju u broju amino-kiselina (Khimji and Rockey, 2010). ET-1 ima izraženu dugotrajnu vazokonstriktivnu ulogu, indukuje hipertrofiju i hiperplaziju različitih ćelija, proliferaciju fibroblasta i neurohumoralnu inflamaciju (Thorin and Webb, 2010).

1.1.4 Patofiziološki mehanizmi ateroskleroze

Ateroskleroza je složena bolest, uzrokovana višestrukim faktorima, uključujući genetske faktore, kao i tradicionalne i netradicionalne faktore (Fan and Watanabe, 2022). Ateroskleroza predstavlja hronični inflamatorni, fibroproliferativni proces praćen nakupljanjem lipida (Glass and Witztum, 2001; Libby, 2002; Hansson, 2005).

Godine 1841. Vogel je dokazao prisustvo holesterola u aterosklerotskom plaku i tako prvi ukazao na sponu između holesterola i ateroskleroze. Potom 1842. godine Carl von Rokitanski je predstavio trombogenu teoriju, a 1856. godine Virchow je predstavio novu teoriju odgovora na oštećenje endotela, u kojoj oštećenje endotela dovodi do inflamacije i ćelijske proliferacije (Kanjuh et

al., 2002). Potom, 1913. godine Anitschkov i Chalotov su ukazali da aterosklerotske promene izaziva ishrana bogata holesterolom. LDL čestice predstavljaju glavne aterogene lipoproteine, i to su i dokazali Goldstein i Brown.

Značajnu ulogu u aterogenezi igra endotelna disfunkcija. Tokom oštećenja endotelnih ćelija dolazi do povećane permeabilnosti zida krvnih sudova, i samim tim lakšeg prolaska aterogenih lipoproteina u intimu krvnog suda. LDL holesterol prolazi kroz endotel i tu se modifikuje u oksidovani LDL (oxLDL). Smatra se da oxLDL ima krucijalnu ulogu u inicijaciji endotelne disfunkcije i zauzima glavno mesto u procesu aterogeneze (Steinberg and Lewis, 1997; Miller et al., 2003). Step en oskidisanosti LDL čestice je jedan od uslova za brzinu prolaska kroz endotel, te native čestice LDL prolaze sporije, dok oksidisane visokog stepena prolaze jako brzo. U subendotelnom prostoru se odvija proces lipidne peroksidacije, pod uticajem oksidaze i peroksidaze, koje su potekle iz makrofaga nastalih od monocita (Osterud and Bjorklid, 2003). Faktori koji su odgovorni za aterogenost oxLDL su: hemotaksično svojstvo za T ćelije i monocite, sprečavanje prelaska makrofaga iz zida krvnog suda u cirkulaciju, prikazivanje specifičnih receptora na endotelu i citotoksičnih osobina (Jaipersad et al., 2014). OxLDL čestice imaju hemotaksično dejstvo na monocite i T ćelije, povećavaju adhezivnost i agregaciju ovih ćelija tako što se na površini endotelnih ćelija ekspimiraju adhezivni molekuli. To su vaskularni adhezivni molekul-1 (VCAM-1), endotelno-leukocitni adhezivni molekul (ELAM) i intercelularni adhezivni molekul-1 (ICAM-1). Ovi adhezivni molekuli dovode do oslobađanja monocitnog hemotaksičkog proteina iz endotelnih ćelija i samim tim dovode do daljeg prolaska monocita iz krvi u zid krvnog suda. Potom se, monociti i T limfociti u subendotelnom prostoru diferenciraju u makrofage, na svojoj površini prikazuju scavenger receptore, preuzimaju oxLDL čestice, i postaju penaste (masne) ćelije (Falk, 2006). Penaste ćelije omogućavaju glatkomišićnim ćelijama da pređu iz medije u intimu, pomoću produkcije trombocitnog faktora rasta i pomoću PDGF stimulišu proliferaciju fibroblasta, što dovodi do morfoloških promena na zidovima krvnih sudova, odnosno, dolazi do nastanka masnih pruga (intimalni ksantom) (Libby, 2002). Penaste ćelije su glavna komponenta rane aterosklerotske lezije – masnih pruga. Pod uticajem penastih ćelija, endotel na svojoj površini prikazuje monocit hemotaksični faktor 1 (MCP-1), i na taj način privlači i vezuje još monocita. Sve ovo za posledicu ima dalju disfunkciju endotela, smanjene sinteze NOS i superoksid dizmutaze (SOD) i, posledično dovodi do smanjene sinteze i aktivnosti NO. Ovo rezultuje gubitkom endotel zavisne vazodilatacije, inflamatornim i prokoagulantnim odgovorom (Osterud and Bjorklid, 2003).

Ukoliko se nastavi nakupljanje oxLDL čestica u makrofazima, dolazi do njihove apoptoze. Na taj način se subintimalno stvaraju naslage ekstracelularnih kristala holesterola. Glatke mišićne ćelije iz medije i narušene intime se aktiviraju, dobijaju proliferativni fenotip, te proizvode kolagen i elastična vlakna, koja okružuju penaste ćelije i kristale. Na taj način se formira lipidni bazen i fibrozna kapa koja ga okružuje. Fibrozna kapa je bogata kolagenom i elastinom, kao produktima glatkomišićnih ćelija i sadrži ekstracelularni matriks. Ovaj stadijum se zove fibroaterom (lipidna aterosklerotična ploča) (Virmani, 2005).

Fibroaterom je izložen različitim uticajima, kako mehaničkim (hipertenzivni uticaj) ili hemijskim (matriks metaloproteinaze; MMP), što može dovesti do nestabilnosti fibrozne kape, i posledično do rupture i procesa trombogeneze. Takođe može doći i do hemoragije unutar samog fibroateroma. Ukoliko se nastavi rast fibroateroma, bez komplikacija, posledica je suženje krvnog suda, i opstrukcija krvnog suda, uz ireverzibilne ishemijske promene distalno od opstrukcije. Može se zaključiti da sa daljim rastom lipidnog jezgra fibrozna kapa ima veoma važnu ulogu u protekciji samog lipidnog jezgra (Weissberg, 2000). Pokazano je da fibroateromi sa bogatim lipidnim jezgrima, bez obzira na stepen opstrukcije krvnog suda, i sa tankom fibroznom kapom imaju veću šansu za rupturu, u odnosu na one koji imaju deblju fibroznu kapu. Ovakav fibroaterom, sa velikim lipidnim jezgrom i tankom fibroznom kapom, smatra se nestabilnim ili vulnerabilnim plakom, i ima veću mogućnost rupture kape i nastajanja tromboze, odnosno razvoja akutnog koronarnog sindroma (AKS) (Davies, 1996).

Glavne odlike vulnerabilnosti plaka jesu veličina i sastav lipidnog jezgra i debljina fibrozne kape koja ga okružuje, i akutna inflamacija unutar samog plaka, tj. prisustvo, koncentracija, kao i

aktivnost samih makrofaga (van Veelen et al., 2022). Smatra se da je najčešće mesto rupture plaka rubni region, kao najtanji deo fibrozne kape. Prilikom ruptуре fibrozne kape, lipidno jezgro biva izloženo protoku krvi. Potom makrofazi pojačano luče tkivni faktor i PAI-1, kao i različite proteaze poput MMP. Tkivni faktor, kao integralni membranski protein, veže faktor VII/VIIa, i pokreće koagulacionu kaskadu uzrokujući trombozu. Paralelno, PAI-1 inhibira fibrinolizu. Luminalni tromb može vršiti potpunu ili delimičnu opstrukciju i u blizini mesta ruptуре je bogat trombocitima, te se naziva beli tromb, a na delovima gde je pretežno izgrađen od fibrina i eritrocita se naziva crveni tromb. Makrofazi bogati lipidama putem apoptoze propadaju i oslobađaju enzime – MMP, koje dalje razgrađuju ekstracelularni matriks (Zhang, 2022). Najznačajniji u pogledu razgradnje fibrozne kape je MMP-1. Kod nevulnerabilnog plaka procesi sinteze i razgradnje ekstracelularnog matriksa su uravnoteženi, te lipidno jezgro plaka nije izloženo protoku krvi i samim tim nema tromboze.

Defekti fibrozne kape, pored ruptуре plaka, jesu deskvamacija endotela, erozije i fisura plaka. Erozijska plaka se karakteriše nedostatkom endotelne ćelije kao i subendotelne tkiva, i uglavnom se nalazi u centralnom delu i pokrivena manjim trombom. Fisura predstavlja širi i dublji defekt endotela i subendotelne tkiva, ali i dalje ne dolazi do lipidnog jezgra, isto je pokriven trombom koji je veći i prominira u lumen arterije (Davies and Thomas, 1985). Daljim napredovanjem ateroskleroze često dolazi do razvoja angiogeneze. Angiogeneza je verovatno prediktor stepena aktivnosti ateroskleroze i može biti pokazatelj visoko rizičnih plakova (Virmani et al., 2005). Neovaskularizacija počinje iz vasa vasorum u adventiciji, pa preko tunica mediae ide do baze samog aterosklerotskog plaka. Novi krvni sudovi su gracilni, i prikazuju VCAM-1 adhezivne molekule i dolazi do izlaska proteina plazme, eritrocita kao i infalmatornih ćelija (Barger et al., 1984; Kolodgie et al., 2003).

U aterosklerotskim plakovima veoma često ima fokalne kalcifikacije koja se sa starenjem povećava (Hoffmann et al., 2003). Ukupna količina kalcijuma (Ca^{2+}) u koronarnim krvnim sudovima predstavlja kalcijumski skor. Kalcijumski skor je marker ukupnog opterećenja aterosklerozom i dobar je prediktor pojave koronarnih događaja (Pletcher et al., 2004).

U arterijskim krvnim sudovima, kako napreduje proces ateroskleroze, tako dolazi do remodelovanja krvnog suda (Glagov et al., 1987). Pozitivno remodelovanje se karakteriše uvećanjem spoljnog dijametra arterije, bez značajnog suženja krvnog suda. Do smanjenja lumena krvnog suda dolazi tek kada plak zauzima 40% ukupne poprečne površine arterijskog krvnog suda. Negativno remodelovanje se karakteriše nedostatkom adaptivnog odgovora krvnog suda na porast plaka. Indeks remodelovanja predstavlja količnik površine poprečnog preseka krvnog suda na mestu plaka, računajući i spoljašnju elastičnu laminu arterije, i referentnog segmenta (Schoenhagen, 2000). Referentni segment predstavlja segment unutar 10 mm od plaka, koji je urednog nalaza i nema jakih bočnih grana. Pomoću intravaskularnog ultrazvuka (IVUS) se izračunava indeks remodelovanja. Kada je indeks remodelovanja veći od 1, to je pozitivno remodelovanje, a kada je manji od 1, to je negativno remodelovanje. Na vrstu remodelovanja može uticati i lokalizacija plaka, te se negativno remodelovanje može naći češće na proksimalnim segmentima koronarnih arterija i na ostijalnim lokalizacijama. Mehanički manje stabilni plakovi su češće povezani sa pozitivnim remodelovanjem, kao i sa tankom fibroznom kapom i velikim lipidnim jezgrom, i samim tim češće dolazi do razvoja AKS (Pasterkamp et al., 1998; Varnava et al., 2002; Sezer et al., 2021).

1.1.5 Klinički i terapijski aspekti infarkta miokarda

Akutni infarkt miokarda nastaje kada postoji akutno oštećenje miokarda sa kliničkim dokazima o akutnoj miokardnoj ishemiji i sa dokazanim porastom i/ili padom vrednosti kardijalnog troponina sa najmanje jednom vrednosti iznad 99.og percentila iznad gornje granice i sa najmanje jednim od sledećih stavki (Roffi et al., 2016):

- 1) simptomi ishemije miokarda;
- 2) novonastale elektrokardiografske promene ST segmenta i/ili T talasa ili novonastali blok grane;
- 3) razvoj patološkog Q zubca na elektrokardiogramu;

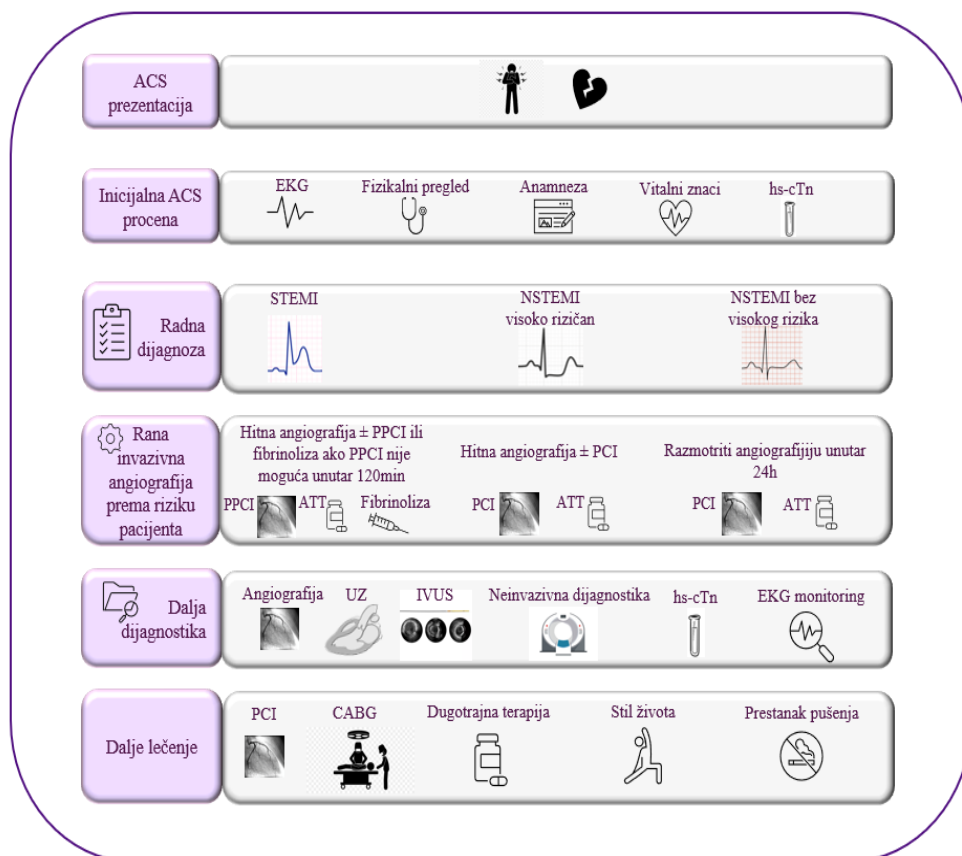
- 4) dokaz novonastalog gubitka vijabilnosti miokarda primenom neke od imidžing tehnika ili novonastali ispad u segmentnoj kontraktilnosti zida miokarda koji može korelisati sa ishemijom;
- 5) potvrđena tromboza u koronarnom krvnom sudu na angiografiji ili obdukciji.

Postoji pet tipova infarkta miokarda (Collet et al., 2021). **Tip 1** infarkta miokarda karakteriše nastanak intraluminalne tromboze jednog ili više koronarnih krvnih sudova, nastale usled ruptуре, ulceracije, fisure ili erozije aterosklerotskog plaka (Thygesen et al., 2018). **Tip 2** infarkta miokarda karakteriše neravnoteža između potreba i zaliha miokarda za kiseonikom. Mehanizmi koji mogu dovesti do nastanka ovog tipa infarkta miokarda uključuju hipotenziju, malignu hipertenziju, šok, tahii- ili bradi-aritmije, respiratornu insuficijenciju, anemiju teškog stepena, kao i spazam koronarnih krvnih sudova, koronarnu mikrovaskularnu disfunkciju, koronarnu emboliju i spontanu disekciju koronarne arterije (SCAD) (Neumann et al., 2017; Nestelberger et al., 2017; Chapman et al., 2018). **Tip 3** infarkta miokarda je udružen sa smrtnim ishodom kod pacijenata sa simptomima koji ukazuju na ishemiju miokarda ili novonastalim ishemijskim elektrokardiografskim promenama, kada biomarkeri nisu dostupni (Thygesen et al., 2018). **Tip 4a** infarkta miokarda je povezan sa perkutanom koronarnom intervencijom (PCI), nastao unutar < 48 h od procedure. **Tip 4b** infarkta miokarda je povezan sa trombozom stenta, a **tip 4c** infarkta miokarda je povezan sa instent restenozom. **Tip 5** infarkta miokarda je povezan sa hirurškom revaskularizacijom miokarda (CABG) (Thygesen et al., 2018).

Tabela 1. – Klasifikacija angine prema Kanadskom kardiovaskularnom društvu

Kanadsko kardiovaskularno društvo (CCS) – klasifikacija težine angine

<i>Klasa 1</i>	Uobičajena fizička aktivnost (poput pešačenja ili penjanja uz stepenice) ne dovodi do nastanka angine pektorisa i/ili dispneje. Angina se javlja pri teškom, brzom i produženom naporu na poslu ili pri rekreaciji.
<i>Klasa 2</i>	Blago ograničenje uobičajenih aktivnosti. Angina i/ili dispneja nastaje pri brzom pešačenju ili penjanju uz stepenice, hodanju uzbrdo, pešačenju ili penjanju nakon jela ili na hladnoći i vetru, pri emotivnom stresu, ili u prvih par sati nakon buđenja. Tegoba u grudima nastaje pri prešačenju više od dva bloka – 200 m po ravnom ili penjanjem uz stepenice više od jednog sprata pri normalnom hodu i uslovima.
<i>Klasa 3</i>	Značajno ograničenje uobičajenih aktivnosti. Angina i/ili dispneja nastaje pri prešačenju 100-200 m po ravnom ili penjanju uz stepenice do jednog sprata pri normalnom hodu i u normalnim uslovima.
<i>Klasa 4</i>	Nemogućnost obavljanja bilo kakve fizičke aktivnosti bez anginoznih tegoba – angina i /ili dispneja može nastati i u miru.



Slika 1. Prikaz inicijalne trijaže, dijagnostike i postavljanja odgovarajuće dijagnoze, gde su simptomi i znaci u korelaciji sa akutnim koronarnim sindromom. ACS – akutni koronarni sindrom; STEMI – infarkt miokarda sa ST elevacijom, NSTEMI – infarkt miokarda bez ST elevacije; ECG – elektrokardiogram; pPCI – primarna perkutana koronarna intervencija; ATT – antitrombocitna terapija, CABG – aortokoronarni bajpas; UZ – ultrazvuk srca; IVUS – intravaskularni ultrazvuk; (Ilustracija preuzeta i modifikovana iz Byrne et al., 2023).

Akutni koronarni sindrom (AKS) se klinički klasifikuje kao infarkt miokarda sa elevacijom ST segmenta (STEMI), infarkt miokarda bez ST elevacije (NSTEMI) i nestabilna *angina pectoris* (Slika 1). Nestabilna *angina pectoris* je kliničko stanje koje se prezentuje bolom u grudima, koji se javlja u miru ili pri minimalnom naporu, elektrokardiografskim promenama bez elevacije ST segmenta i bez povišenih markera miokardne nekroze (Roffi et al., 2016). NSTEMI je kliničko stanje koje se prezentuje bolom u grudima koji se javlja u miru ili pri naporu, elektrokardiografskim promenama (depresija ST segmenta $> 0,5$ mm u dva susedna odvoda, bez elevacije ST segmenta, inverzija T talasa > 1 mm u dva susedna odvoda) uz povišene markere miokardne nekroze (Roffi et al., 2016). STEMI je kliničko stanje koje se prezentuje bolom u grudima koji se javlja u miru ili pri naporu, elektrokardiografskim promenama uz elevaciju ST segmenta u najmanje dva uzastopna odvoda ili novonastalim blokom leve grane, i uz povišene markere miokardne nekroze (Ibanez et al., 2018).

Klinička slika obuhvata anginozni bol u grudima u vidu pritiska, stezanja, probadanja, gušenja ili težine (kao da neko sedi na grudima), sa ili bez propagacije (vrat, vilica, leđa, jedno ili oba ramena, jedna ili obe ruke), produženog trajanja (> 20 min), što može biti praćeno mučninom, gorušicom, povraćanjem, nedostatkom vazduha i/ili dispnom (Rubini Gimenez et al., 2014). Anginozni bol može biti produženog trajanja (> 20 min), *angina de novo* (clasa II ili III CCS), krešendo angina (pogoršanje stabilne angine pectoris, sa najmanje skorom III CCS) ili postinfarktna *angina pectoris* (Tabela 1).

Veoma je važno razlikovati akutni infarkt miokarda od miokardne povrede. Postoje brojna stanja koja su povezana sa miokardnom povredom, ali ne predstavljaju AIM tip 1, kao što su: tahiaritmija, srčana insuficijencija, hipertenzivna kriza, šok, sepsa, miokarditis, takotsubo sindrom,

valvularne bolesti, disekcija aorte, plućna embolija, hronična bubrežna insuficijencija, akutno neurološko oštećenje – moždani udar, subarahnoidalna hemoragija, stanje posle neke od intervencija na srcu, hipotireoza, hipertireoza, ekstremni naponi, rabdomioliza, toksično trovanje miokarda, amiloidoza, hemohromatoza, sarkoidoza i sklerodermia.

Glavni cilj lečenja jeste antiishemijska terapija, redukovanje intenziteta bola u grudima kao i rizika za nastanak tromba i dalje napredovanje bolesti antitrombocitnom i antikoagulantnom terapijom. Ovakvi pacijenti se prate u koronarnim jedinicama, sa intezivnim monitoringom i ograničenjem aktivnosti radi smanjenja potreba miokarda za kiseonikom. U zavisnosti od vrste AKS, zavisi dalji pristup lečenju (**Slika 1**).

Kod pacijenata sa infarktom miokarda bez ST elevacije, osnovna strategija lečenja jeste stratifikacija rizika pacijenta, koji se dele na pacijente sa niskim, umerenim, visokim i veoma visokim rizikom za ishemiju (Roffi et al., 2016; Collet et al., 2021). Postoji više skorova rizika koji služe za stratifikaciju pacijenata, za procenu prognoze za ponovni događaj ishemije i mortalitet. Najčešće korišćeni skorovi su tromboliza u infarktu miokarda (engl. *Thrombolysis in Myocardial Infarction – TIMI*) i globalni registar akutnih koronarnih događaja (engl. *Global Registry of Acute Coronary Events – GRACE*). Kod stabilnih pacijenata sa niskim rizikom, imamo dva terapijska pristupa koji podrazumevaju neinvazivno testiranje i konzervativni pristup, i invazivni pristup. Pacijenti sa umerenim rizikom podrazumevaju invazivni terapijski pristup unutar 72 h od primarnog događaja. Pacijenti sa visokim rizikom podrazumevaju rani invazivni pristup unutar 24 h, dok pacijenti sa veoma visokim rizikom podrazumeva hitni invazivni pristup lečenja i revaskularizaciju unutar 2 h. Medikamentna terapija podrazumeva primenu antitrombocitne terapije, antikoagulantne terapije u skladu sa adekvatnim indikacijama, beta blokatora, intravenskih opioda (morfin) u zavisnosti od inteziteta bola, nitrata, a u sekundarnoj prevenciji se primenjuju i inhibitori angiotenzin konvertujućeg enzima ili blokatori angiotenzinskih receptora, blokatori aldosteronskih receptora, statini, inhibitori protonske pumpe, i u zavisnosti od indikacija koristi se i oralna antikoagulantna terapija (Byrne et al., 2023).

Osnov lečenja pacijenata sa AMI sa elevacijom ST segmenta podrazumeva repurfuzionu terapiju, tj. primarnu perkutanu intervenciju (PCI) i fibrinolitičku terapiju (Byrne et al., 2023). Prema najnovijim smernicama Evropskog kardiološkog društva (ESC), primarna PCI je terapija izbora samo u slučaju da se ispunjavaju odgovarajući uslovi, tj. ako je moguće unutar 120 min. od postavljanja dijagnoze STEMI izvesti koronarnu angiografiju i otvoriti infarktenu arteriju (Byrne et al., 2023). U slučaju da transfer pacijenta u PCI centar nije moguć unutar 120 min., preporuke kažu da je fibrinolitička terapija izbor daljeg lečenja ukoliko nema kontraindikacija za istu (Byrne et al., 2023). Primena fibrinolitičke terapije je neophodna unutar 10 min od postavljanja dijagnoze STEMI i ne treba čekati pristizanje markera miokardne nekroze za započinjanje iste (Fosbol et al., 2013; Fazel et al., 2023; Byrne et al., 2023). U slučaju primene fibrinolitičke terapije i njenog neuspeha, indikovana je spasavajuća PCI. Neuspeh primene fibrinolitičke terapije se smatra ukoliko na elektrokardiogramu nema spuštanja ST elevacije > 50% unutar 60–90 min od primene iste, ili u slučaju električne ili hemodinamske nestabilnosti bolesnika, prisutnosti stalnog bola u grudima ili pogoršanja ishemije (Armstrong et al., 2013; Gershlick et al., 2005; Byrne et al., 2023). U slučaju uspešne primene fibrinolitičke terapije, pacijentima treba uraditi rani invazivni pristup, unutar 2–24 h od primene fibrinolitičke terapije, bez obzira na njenu uspešnost (Cantor et al., 2009).

Komplikacije AMI se javljaju u 35% do 40% bolesnika sa STEMI. Mogu se podeliti na ishemijske, mehaničke, električne, embolijske i inflamatorne (Byrne et al., 2023). Kao najčešća komplikacija STEMI u 25%–30% slučajeva se javlja srčana slabost i u relaciji je sa ranim i kasnim mortalitetom. Može se javiti u dva oblika, kao rana – unutar 24 h od pojave bola u grudima, i kasna – unutar 3 do 7 dana od pojave inicijalnog koronarnog događaja. Klasifikacija srčane slabosti kod pacijenata sa STEMI se može izvršiti na dva načina. Postoji Killip klasifikacija koja se odnosi na kliničku prezentaciju, i može biti u formi lake dispneje pa sve do forme kardiogenog šoka (**Tabela 2**) (Killip 3rd, 1967). Pored toga, klasifikacija se može zasnivati na hemodinamskim parametrima - Forester klasifikacija (Tabela 2.), gde se prate parametri poput plućnog kapilarnog pritiska (PCWP) i kardijalnog indeksa (CI) (Forrester et al., 1976). Kardiogeni šok je komplikacija

koja je udružena sa visokim stepenom mortaliteta (40%–67%) i javlja se u malom procentu ovih pacijenata (VanDyck and Pinsky, 2021). Kardiogeni šok se karakteriše znacima hipoperfuzije organa, hipotenzijom, niskim kardijalnim indeksom ($< 2,2 \text{ L/m}^2$) i povećanim pulmonalnim kapilarnim uklještenim (engl. *wedge*) pritiskom (PCWP $> 18 \text{ mmHg}$) (Samsky et al., 2021).

Tabela 2. Klasifikacija srčane slabosti kod pacijenata sa STEMI – Killip i Forrester; PCWP – pulmonalni kapilarni uklješteni pritisak; CI – kardijalni indeks;

<i>STEMI</i>	<i>Killip klasifikacija srčane slabosti</i>	<i>Forrester klasifikacija srčane slabosti</i>
<i>Klasa 1</i>	Bez znakova srčane slabosti	Normalna hemodinamika (PCWP $< 18 \text{ mmHg}$, CI $> 2,2 \text{ L/m}^2$)
<i>Klasa 2</i>	Plućna kongestija, S3, povišen jugularni venski puls	Plućni edem (PCWP $> 18 \text{ mmHg}$, CI $> 2,2 \text{ L/m}^2$)
<i>Klasa 3</i>	Plućni edem	Periferna hipoperfuzija, hipovolemija (PCWP $< 18 \text{ mmHg}$, CI $< 2,2 \text{ L/m}^2$)
<i>Klasa 4</i>	Kardiogeni šok	Kardiogeni šok (PCWP $> 18 \text{ mmHg}$, CI $> 2,2 \text{ L/m}^2$)

U slučaju kasnije pojave simptoma i znakova kardiogenog šoka, pojave bola u grudima ili pojave novog auskultatornog šuma nad srcem, kod bolesnika sa STEMI treba posumnjati na moguće mehaničke komplikacije. U mehaničke komplikacije spadaju ruptura papilarnog mišića, tendinoznih hordi ili slobodnog zida leve komore, postinfarktni ventrikularni septalni defekt, pseudoaneurizma kao i prava aneurizma. U električne komplikacije spadaju pojava ventrikularne tahikardije ili fibrilacije, atrijske fibrilacije, i atrioventrikularni blok. U embolijske komplikacije spada pojava tromba u levoj komori, a u inflamatorne komplikacije spada perikarditis koji se može manifestovati kao akutni perikarditis, ili kao kasni postinfarktni perikarditis (Dreslerov sindrom).

1.1.6 Markeri miokardne nekroze

Kod svih pacijenata sa suspektim AKS, bez elektrokardiografskih promena koje ukazuju na STEMI, potrebno je uraditi markere miokardne nekroze, koji nam omogućavaju postavljanje adekvatne dijagnoze, kao i daljeg postupanja u lečenju ovih pacijenata, u skladu sa kliničkom slikom i elektrokardiografskim promenama (Mueller, 2014). Aktuelna definicija infarkta miokarda koja je predstavljena od strane Evropskog kardiološkog društva, Američkog kardiološkog društva kao i Svetske kardiološke federacije, podrazumeva da je zajedno sa kliničkom slikom potrebno imati povišene vrednosti, a potom pad vrednosti koncentracije kardijalnog troponina iznad 99.og percentila gornje referentne vrednosti (Thygesen et al., 2018).

Troponin predstavlja kompleks proteina koji ulazi u sastav tankih filamenata prugastih mišića i učestvuje u Ca^{2+} posredovanoj interakciji aktina i miozina. Sastoji se iz tri jedinice: C, I i T. Troponin T i I se javljaju u tri izoforme i svaka je kontrolisana različitom sekvencom gena. Izoforma I je kardijalnog porekla, izoforme 2 i 3 su spore i brze skeletne izoforme. Uloga kardijalnog troponina I (cTnI) je kontrola kontrakcije kardijalnog mišića zajedno sa Ca^{2+} . cTnI blokira dejstvo aktomiozin Mg^{2+} -ATPaze i na taj način dovodi do relaksacije mišića, sprečavajući interakciju između aktinskih i miozinskih vlakana (Thygesen et al., 2010). Kardijalni troponin T (cTnT) omogućava vezivanje kompleksa 3 proteina za tropomiozin i vezivanje kardijalnog troponina C (cTnC) za Ca^{2+} , omogućava kontrakcije zavisne od Ca^{2+} i poništava dejstvo cTnI (Adams 3rd JE, Abendschein and Jaffe, 1993). Pokazano je da cTnT i cTnI nisu prisutni kod zdrave adultne populacije u skeletnim mišićima, a cTnT je takođe prisutan i u skeletnim mišićima fetusa (Bodor et al., 1997). Kod oporavka skeletnog mišića

nakon povrede, dolazi do embrionalne miogeneze (Chargé and Rudnicki, 2004), što vodi ka pojavi fetalnih izoformi cTnT (Toyota and Shimada, 1984). Pomoću proteza (npr. kaplein-I, kaspaza, matriks metaloproteinaza 2) koje se nalaze unutar ćelija i unutar krvi se razlaže kardijalni troponin (Hessel et al., 2008). cTnI i cTnT se oslobađaju iz miokarda oštećenog nekrozom, kao celina i kao razloženi produkti (Labugger et al., 2000). Nakon pojave prvih simptoma, u prvih nekoliko sati dolazi do oslobađanja kardijalnog troponina, i beleži se veća koncentracija cTnI u odnosu na cTnT (Mingels et al., 2023). Postoje široko dostupni eseji za cTnI, te i to utiče na izmerenu koncentraciju cTnI i njenu dinamiku (Mingels et al., 2023). Takođe, i sama kriva oslobađanja kardijalnog troponina je različita za cTnT i cTnI, gde cTnT ostaje duže vremena povišen usled dvostrukog pika oslobađanja (Mingels et al., 2023).

Kardijalni troponin može biti hronično povišen u određenim stanjima poput srčane slabosti, bubrežne slabosti, tesne aortne stenozе i akutnog ishemijskog moždanog udara. Pretpostavlja se da je uključeno više mehanizama (Mair et al., 2018).

Laktat dehidrogenaza (LDH) je citosolni enzim koji je sastavni deo anaerobne faze glikolize. Njegova uloga kao katalizatora je sastavni deo reakcije oksidacije L-laktata u piruvat, i obrnuto, reakcije redukcije piruvata u L-laktat. LDH je sastavljen od četiri subjedinice, gde subjedinica M predstavlja mišićni deo, a H predstavlja srčani deo. Postoji pet izoenzima LDH, i to LDH-1 (H₄), LDH-2 (H₃M), LDH-3 (H₂M₂), LDH-4 (HM₃) i LDH-5 (M₄). U srčanom mišiću su najviše zastupljeni izoenzimi LDH-1 i LDH-2, kao i u bubrezima i eritrocitima, dok su u jetri i skeletnim mišićima zastupljeni LDH-4 i LDH-5 (Drent et al., 1996). LDH ima široku rasprostranjenost u tkivima, te određivanje aktivnosti LDH u serumu ima značaj u dijagnostici mnogih oboljenja, kao npr. infarkt miokarda, hemolitičke anemije, oboljenja jetre i tumora ovarijuma (Khan et al., 2020). LDH je kasni marker u dijagnostici AMI, jer njegov očekivani porast nakon AIM je za 12–24 h, a pik je nakon 48–72 h (Senthil Kumaran and Stanely Mainzen, 2011). Pokazano je da se bazalne vrednosti LDH nakon AMI mogu koristiti kao nezavisni faktor rizika za nastanak srčane slabosti (Zhang et al., 2024). LDH se može koristiti kao pokazatelj anaerobnog disanja tokom miokardne povrede. Poromene u koncentraciji LDH su vremenski određene tokom procesa infarkta miokarda (MI) (Gopcevic et al., 2011).

Kreatin kinaza (CK) je enzim koji ima ulogu u snabdevanju ćelije energijom, tako što omogućava adekvatne količine ATP za kontrakciju ćelija mišića. Nalazi se u citoplazmi i u mitohondrijama. Najveća aktivnost CK je u poprečno-prugastim mišićima, srčanom mišiću, gastrointestinalnom traktu i centralnom nervnom sistemu. Sastoji se od dve subjedinice, M koja predstavlja mišićni deo i B koja predstavlja moždani deo. U zavisnosti od organa, postoje tri izoenzima. CK-MM koji je lokalizovan u skeletnom mišiću, CK-MB koji je lokalizovan u miokardu, i CK-BB koji je lokalizovan u mozgu, želucu i crevima (Lang and Würzburg, 1982). Porast koncentracije CK i njegovog izoenzima CK-MB predstavlja jednu od odlika AMI.

1.1.7 Kardiovaskularni markeri

Homocistein (Hcy) je sumporovita, neproteinska amino-kiselina, koja u organizmu nastaje najvećim delom iz metionina (Met), a u manjoj količini se nalazi u namirnicama. Pod dejstvom enzima metionin S-adenoziltransferaze (MAT), Met se prevodi u S-adenozilmetionin (SAM), donira metil grupu dejstvom katalizatora (*metil transferaza* – MT) i nastaje S-adenozilhomocistein (SAH). Pod uticajem enzima S-adenozilhomocistein hidrolaze, od SAH nastaje Hcy (Jakubowski, 2019). Takođe, Met se pod dejstvom enzima metionil-tRNK sintetaza (MRS) spaja sa transportnom RNK i na taj način učestvuje u sintezi proteina.

Postoje četiri puta kojima se dalje odvija metabolizam homocisteina (Jakubowski, 2019):

1. remetilacijski put – u reakciji enzima metionin sintaze (MS) i 5-metil tetrahidrofolata (THF-CH₃) kao donora metil grupe, ponovo nastaje Met;
2. trans-sulfuracijski put – koji se na dva načina, pod dejstvom enzima cistation beta sintaze (CBS) i enzima cistation gama liaze (CGL) konvertuje sve do cisteina, a cistein se koristi dalje za sintezu proteina i glutaciona;

3. pod dejstvom enzima metionil-tRNK sintetaze pretvara se u homocistein tiolakton (Hcy-T);
4. formira sa bočnim lancem cisteina disulfidne veze i tako ulazi u sastav polipeptidnog lanca proteina.

Prekomerno nakupljanje homocisteina je patološko stanje, označeno kao hiperhomocisteinemija (HHcy). Prema stepenu nakupljanja, deli se u tri oblika: umereni, srednji i teški oblik (Hankey and Eikelboom, 1999).

Povezanost homocisteina i ateroskleroze je utvrdio McCully 1969. godine, istraživanjem promena na krvnim sudovima kod dece sa genetskim mutacijama enzima koji učestvuju u metabolizmu Hcy (McCully, 1969). Dalje proučavanje uticaja Hcy na proces ateroskleroze je nastavljeno, te su mnoge opservacione studije na ljudima pokazale da je HHcy važan nezavisni faktor rizika za aterosklerozu kod osoba koje nisu imale hiperholesterolemiju, hiperlipoproteinemiju ili druge faktore rizika za aterosklerozu (McCully, 2005).

Jedan od mogućih uzroka endotelne disfunkcije je i HHcy. HHcy dovodi do povećanog oksidativnog stresa i preko nuklearnog faktora kapa B (NF- κ B) puta, dovodi do pojačane sekrecije citokina i pojave adhezivnih molekula u endotelnim ćelijama (Barroso et al., 2016). Takođe, HHcy može dovesti do povećane aktivacije trombocita i pojačane proizvodnje tromboksana A₂ i posledične pojačane agregacije trombocita, naročito kod ishemijske bolesti srca (Wald et al., 2011). Takođe, visoke vrednosti Hcy su kod eksperimentalnih životinja povezane sa smanjenom aktivnošću enzima superoksid dismutaze i glutation peroksidaze (Richard et al., 2018). Povećana produkcija reaktivnih kiseoničnih radikala (engl. *reactive oxygen species* – ROS) usled HHcy, za posledicu ima pojačanu oksidaciju LDL čestica i njihovo pojačano nakupljanje unutar plaka (Kumar et al., 2017; Griffiths et al., 2006). Pojačano nakupljanje metionina unutar endotelnih ćelija dovodi do pojačane sinteze Hcy, što dovodi do pojačane nitracije proteina unutar LDL (Griffiths et al., 2006). Takođe, pojačana sinteza Hcy dovodi do povećanog ulaska monocita u plak (Griffiths et al., 2006), a samim tim dovodi do napredovanja procesa ateroskleroze.

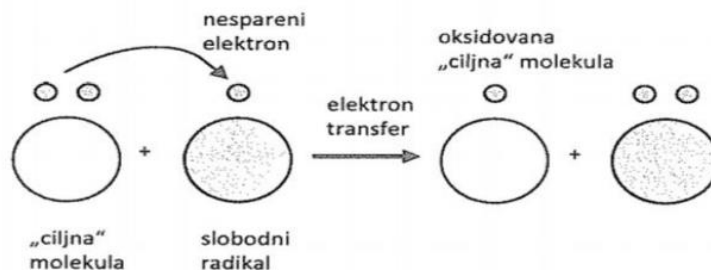
Kao što je već pomenuto, jedan od puteva metabolizma Hcy je pod dejstvom enzima metionil-tRNK sintetaze, konverzija u Hcy-T, toksični produkt koji formira amidne veze sa amino-grupama proteina (Jakubowski, 2019). Jedan od novih nezavisnih prediktora rizika za nastanak AMI je i koncentracija Hcy-T u urinu (Borowczyk et al., 2018). Takođe, koncentracija Hcy u plazmi je isto prepoznata kao faktor rizika za bolest koronarnih krvnih sudova (Yang et al., 2006).

Von Willebrandov faktor (vWF) je multimerni glikoprotein, i ima krucijalnu ulogu u primarnoj hemostazi, tj. u posredovanju adhezije i agregacije trombocita na mestu vaskularne povrede. Druga važna uloga ogleda se u stvaranju kompleksa sa faktorom VIII u cirkulaciji, i na taj način učestvuje u sekundarnoj hemostazi. vWF značajno produžava životni vek faktora VIII u plazmi (De Meyer et al., 2009). Kao odgovor na inflamaciju, endotelne ćelije pojačano oslobađaju vWF, te možemo zaključiti da je vWF jedan od reaktanta akutne faze (Hollestelle et al., 2006). Usled oštećenja endotela i endotelnih ćelija dolazi do pojačanog oslobađanja vWF, te može se pretpostaviti da vWF može biti jedan od pokazatelja endotelne disfunkcije. Prospektivna, multicentrična European Concerted Action Against Thrombosis (ECAT) studija je pokazala kod 3043 pacijenata sa AP, da su nezavisni pokazatelji za AKS tokom dve godine praćenja nivoi vWF, fibrinogena i tkivnog plazminogen aktivatora (Thompson et al., 1995). Pretpostavlja se da je u osnovi toga oštećenje endotela i samim tim povećan rizik od tromboze. U AKS dolazi do dugotrajnog porasta vWF, koji dostiže najveće koncentracije tri do četiri dana nakon IM sa postepenim padom vrednosti u daljem postinfarktnom periodu (Mannucci 1998).

1.1.8 Oksidativni stres i oksidativni markeri u infarktu miokarda

Oksidativni stres predstavlja narušeno redoks stanje, koje se karakteriše povećanom produkcijom reaktivnih vrsta koja nadmašuje odbrambeni antioksidativni mehanizam (Sies, 1991). U malim količinama produkcija slobodnih radikala ima važnu ulogu u održavanju homeostaze ćelije. Nasuprot tome, prekomerna produkcija slobodnih radikala vodi ka ćelijskoj disfunkciji i posledično smrti ćelije (van der Pol et al., 2019).

Atomi, atomske grupe ili molekuli koji imaju jedan ili više nesparenih elektrona u spoljašnjoj orbitali predstavljaju slobodne radikale. Slobodni radikali su visoko reaktivni usled tog nesparenog elektrona. Prilikom spajanja sa drugim atomima ili molekulima, tačnije donorima elektrona, slobodni radikali dobijaju elektron/elektrone, tj. redukuju se, a donori elektrona gube elektron, tj. oksidišu se. Na taj način nastaje sekundarni slobodni radikal i tako se započinje lančana reakcija (**Slika 2**) (Cheeseman and Slater, 1993).



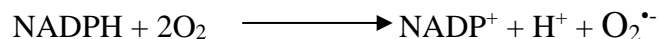
Slika 2. Mehanizam reakcije slobodnih radikala (Ilustracija preuzeta iz Đukić M. Oksidativni stres – Kliničko dijagnostički značaj. Beograd: Mona i Manjana; 2008.)

Pod slobodnim radikalima, tj. reaktivnim vrstama, obuhvaćene su sve klase jedinjenja visoke reaktivnosti (**Tabela 3**). Reaktivne vrste se dele na reaktivne kiseonične vrste (engl. *reactive oxidative species* – ROS), reaktivne azotne vrste (engl. *reactive nitrogen species* – RNS), reaktivne ugljenikove vrste (RCS) i reaktivne sumporne vrste (RSSP). U ROS spadaju: superoksidni anjon ($O_2^{\cdot-}$), peroksil radikal (ROO^{\cdot}), hidroksil radikal (HO^{\cdot}), hidroperoksil radikal (HOO^{\cdot}), alkoksil radikal (RO^{\cdot}), kao i neradikalske vrste (nemaju spareni elektron u spoljašnjoj orbitali): vodonik peroksid (H_2O_2), hipohlorna kiselina ($HOCl$), ozon (O_3) i singlet kiseonik. U RNS spadaju slobodno radikalske vrste poput nitroksil radikal (NO^{\cdot}) i azot-dioksid radikal (NO_2^{\cdot}), kao i neradikalske vrste poput azot-dioksid anjona, azot trioksida, nitronijum jona, peroksinitrit anjona ($ONOO^-$), i drugih (Halliwell et al., 1991; Halliwell and Gutteridge, 1999).

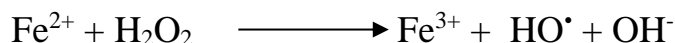
Tabela 3. Reaktivne vrste

	Radikali	Neradikali
ROS	$O_2^{\cdot-}$ superoksidni anjon HO^{\cdot} hidroksil radikal HOO^{\cdot} hidroperoksil radikal RO^{\cdot} alkoksil radikal ROO^{\cdot} peroksil radikal	H_2O_2 vodonik peroksid O_3 ozon 1O_2 singlet kiseonik $HOCl$ hipohlorna kiselina
RNS	NO^{\cdot} nitroksil radikal NO_2^{\cdot} azot-dioksid radikal	NO_2^- azot-dioksid anjon N_2O_3 azot-trioksid NO_2^+ nitronijum jon $ONOO^-$ peroksinitrit anjon $ROONO$ alkil peroksinitrit NO^- singlet nitroksilanjon NO^+ nitrozil katjon NO_2Cl nitril hlorid
RCS	R^{\cdot} alkil radikal RO^{\cdot} alkosil radikal ROO^{\cdot} peroksil radikal	
RSS	RS^{\cdot} tlil radikal GS^{\cdot} glutatil radikal $GSSG^{\cdot}$ diglutatil anjon radikal	

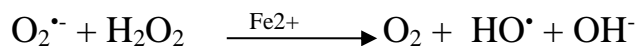
Superoksidni anjon najvećim delom nastaje u mitohondrijama. Pod dejstvom superoksid dismutaze (SOD) se pretvara u manje aktivan vodonik peroksid. $O_2^{\cdot-}$ ima veoma važnu ulogu u procesu ateroskleroze i koronarne bolesti tako što učestvuje u procesu lipidne peroksidacije i nastanku oxLDL, stimuliše proliferaciju glatkomišićnih ćelija, i učestvuje u oštećenju kardiomiocita. $O_2^{\cdot-}$ reaguje sa NO, te kao produkt te reakcije dolazi do stvaranja oksidovanog peroksinitritnog anjona (ONOO⁻), samim tim dolazi i do gubitka aktivnosti NO (Hayyan et al., 2016). U reakcijama pod dejstvom NADPH, tokom zapaljenja i procesa apoptoze takođe dolazi do stvaranja superoksidnog anjona (Baptista et al., 2012).



H_2O_2 je manje reaktivan i on predstavlja važan izvor nastanka hidroksilnih radikala. Vodonik peroksid je najstabilniji predstavnik ROS (Wu and Cederbaum, 2003). Peroksizomi u ćelijama predstavljaju izvor H_2O_2 u fiziološkim uslovima (Valko et al., 2006). Pod dejstvom katalaze, H_2O_2 se razdvaja na vodu i kiseonik, te se tako smanjuju njegovi toksični efekti (Valko et al., 2007). H_2O_2 oksidiše sulfhidrilne grupe proteina i tako započinje procese lipidne peroksidacije, dok zajedno sa jonima metala učestvuje u stvaranju reaktivnih hidroksil radikala (Valko et al., 2007). H_2O_2 zajedno sa Fe^{2+} , u Fentonovoj reakciji, dovodi do nastanka hidroksilnih radikala.



Hidroksilni radikali su takođe jako reaktivni, predstavljaju najlošiju formu ROS, nastaju i u Haber-Vajsovoj reakciji.



ROS putem nekoliko mehanizama negativno deluju na vaskularnu funkciju. ROS, najpre hidroksilni radikali, direktnim putem negativno utiču na ćelijsku membranu i jedro. ROS menjaju proces ateroskleroze i utiču na vazomociju tako što reaguju sa endotelnim ćelijama i vazoaktivnim medijatorima. Takođe, ROS dovodi do peroksidacije lipida, i samim tim do pojačanog stvaranja oxLDL koji su u samoj osnovi procesa ateroskleroze (Bonomini et al., 2008).

ROS mogu nastati u srcu pomoću nekoliko mehanizama, poput NADPH oksidaze, ksanitn oksidaze, i NOS. Tokom procesa oksidativne fosforilacije u mitohondrijama u patološkim uslovima dolazi do povećane produkcije superoksidnog anjona ($O_2^{\cdot-}$). Povećane količine $O_2^{\cdot-}$ doprinose oštećenju kardiomiocita i miokardnoj disfunkciji. Takođe, ROS mogu nastati i kao nusprodukt tokom aerobnog metabolizma koji se odigrava unutar ćelije.

Povećana produkcija ROS nastaje usled povećane aktivnosti NADPH oksidaze (NOX), a koja se odigrava usled dejstva endotelina-1, AngII i faktora nekroze tumora alfa (engl. *tumor necrosis factor* – TNF- α). Postoji nekoliko izoformi NOX, a NOX 2 i NOX4 se nalaze u miokardu (Nabeebaccus et al., 2023). NOX4, lokalizovan u mitohondrijama kardiomiocita, zajedno sa nuklearnom eritroidnom 2 sličnom faktorom (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* – Nfr2) učestvuje u oksidativnom stresu (Peoples et al., 2019; Kuroda et al., 2010). Usled oštećenja srca dolazi do nestabilnosti NOS, samim tim dolazi do povećane produkcije ROS.

U kardiomiocitima postoje odbrambeni mehanizmi koji se aktiviraju radi uklanjanja štetnih efekata ROS i to su antioksidansi. U antioksidativnom mehanizmu odbrane postoji više egzogenih i endogenih supstanci, i neki se smatraju markerima oksidativnog stresa (Asmat et al., 2016). Antioksidativni sistemi mogu biti enzimski i neenzimski. U neenzimske antioksidativne mehanizme odbrane spadaju vitamin E, vitamin C i β -karoten (kao prekursor vitamina A), alfa lipoinjska kiselina, urati, ubikvinon i glutation (GSH) (Lazo-de-la-Vega-Monroy and Fernandez-Mej, 2013). Redukovani glutation ima važnu ulogu u održavanju intraćelijske homeostaze i ima važnu ulogu u zaštiti miokarda tokom ishemije (Sudha et al., 2013). Pokazana je smanjena koncentracija ovog antioksidansa pri akutnom oštećenju miokarda (Kumar et al., 2016).

U enzimске mehanizme odbrane spadaju superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GPx). Tu spadaju i tioredoksin i tioredoksin reduktaza koji služe za katalizaciju velikog broja antioksidativnih supstanci, poput ubikvion Q10, lipoične kiseline i askorbinske kiseline. U nastanku urođenih srčanih mana, kao i kod dilatativnih kardiomiopatija sa fatalnim ishodom, primećen je nedostatak tioredoksin reduktaze (Misra et al., 2009).

SOD ima veliku ulogu u odbrani vaskularnih ćelija protiv superoksid anjona. U sebi sadrži redoks metal, i služi kao katalizator reakcije gde se superoksidni radikali razlažu do H_2O_2 i O_2 . Postoje tri izoforme ovog enzima: citosolna koja ima bakar i cink (CuZnSOD, SOD1), mitohondrijalna (MnSOD, SOD2) koja u sebi ima mangan, i ekstraćelijska SOD (ES-SOD, SOD3). ES-SOD je glikoprotein, tetramer, koji sadrži najpre bakar i cink, i čiju aktivnost regulišu citokini, a potom i odgovor ćelije na ROS (Matés et al., 1999). Pokazano je da ES-SOD ima visok afinitet ka glikozaminoglikanima, poput heparan sulfata (Horiuchi et al., 2004). U kardiovaskularnim antioksidativnim odbrambenim mehanizmima glavnu ulogu ima ES-SOD. Primećeno je da smanjena ekspresija ES-SOD pogoršava endotelnu disfunkciju i povećava veličinu infarktnog polja kod eksperimentalnih animalnih modela (Fukai et al., 2002). Ovi rezultati ukazuju na značajnost nivoa ekspresije ES-SOD u razvoju vaskularnih poremećaja. Povećana ekspresija ES-SOD je primećena i kod pacijenata sa AIM već tokom prvog dana, a značajno povišena ekspresija tokom prvog dana nakon AIM je povezana sa manjim infarktnim poljem (Horiuchi et al., 2004). Pokazano je da se nishodna regulacija ES-SOD češće nalazi kod pacijenata sa stabilnom anginom pectoris, što ukazuje na njenu ulogu u patogenezi hronične koronarne bolesti (Fukai et al., 2002).

CAT je enzim koji ima važnu ulogu u antioksidativnom odbrambenom mehanizmu i uglavnom se nalazi unutar peroksizoma, a može se naći manjim delom i u citosolu. U sebi sadrži hematin, koji je i odgovoran za aktivnost CAT. CAT učestvuje u reakciji kao katalizator, pri čemu se H_2O_2 razlaže do vode i molekularnog kiseonika (Noichri et al., 2013). Pri nastanku H_2O_2 , CAT ima ulogu zaštitnika ćelije od oksidativnog stresa. Svoju najveću aktivnost pokazuje u eritrocitima i hepatocitima, kao i u nervnim i mišićnim ćelijama, dok ga endotelne ćelije ne poseduju. Pokazano je da je kod animalnih modela infarkta miokarda indukovanih izoprenalinom, aktivnost CAT smanjena usled njene povećane aktivnosti radi uklanjanja ROS (Abdelzaher et al., 2021, Song et al., 2020).

GPx je enzim koji se nalazi u mitohondrijama i sadrži selen. Učestvuje u reakciji kao katalizator, pri redukciji H_2O_2 do vode, dok paralelno oksidiše glutation u glutation disulfid (GSSG). GSSG se pomoću glutation reduktaze i NADPH vraća u GSH. Takođe, GPx učestvuje u reakcijama lipidne peroksidacije ćelijskih membrana. Ovde spadaju četiri tipa GPx, od kojih su najvažniji klasični tip GPx i fosfolipidno-hidroperoksidna glutation peroksidaza (Imai and Nakagawa, 2003). Primećena je smanjena aktivnost ovog enzima u modelima infarkta miokarda indukovano isoprenalinom (Abukhalil et al., 2021; Song et al., 2020; Thangaiyan et al., 2020).

Pojačana produkcija ROS tokom oštećenja miokarda aktivira nekoliko mehanizama koji dovode do elektrofizioloških promena, kontraktilne disfunkcije, fibroze i na kraju do srčanog remodelovanja. ROS dovodi do promene proteina koji učestvuju u ekscitaciji i kontrakciji kardiomiocita: kontrasterter Na^+-Ca^{2+} kanala (NCX), Na kanala, L tip Ca^{2+} kanala i K^+ kanala. ROS dovodi do izmene same strukture kanala NCX kao i njegove funkcije, što dovodi do pojačanog ulaska Na^+ i Ca^{2+} jona. Takođe, Ca^{2+} pojačano ulazi putem L tip Ca^{2+} kanala, što dovodi do velikog nakupljanja Ca^{2+} jona unutar ćelije (van der Pol et al., 2019). Povećana produkcija ROS povećava aktivnost ATP zavisnog K^+ (K_{ATP}) kanala i skraćuje vreme trajanja akcionog potencijala (Liu and Gutterman, 2002). Kardioprotektivna uloga K_{ATP} se ogleda u njihovom pojačanom otvaranju tokom ishemije i na taj način se smanjuje nakupljanje Ca^{2+} jona unutar ćelije (Gojković Bukarica and Kazić, 2004). Takođe, ROS smanjuje aktivnost voltažno zavisnih K^+ (K_V) kanala i povećava aktivnost Na^+ kanala u kardiomiocitima i samim tim dovodi do produženog trajanja akcionog potencijala (Liu and Gutterman, 2002).

1.1.9 Inflamacija i markeri u infarktu miokarda

Oporavak miokarda nakon infarkta obuhvata nekoliko faza: rana faza inflamacije, faza oporavka, faza profileracije i faza maturacije (Prabhu and Frangogiannis, 2016). U ranoj fazi inflamacija je odgovorna za minutni volumen srca i za ravnotežu naprezanja zida leve komore (LV). Naprezanje i “tanjenje” zida miokarda u infarktnoj zoni, kao i dilatacija zida miokarda u infarktnoj regiji, potom inflamacija i reasorpcija nekrotičnog tkiva zajedno vode ka širenju infarktne polja (Weisman and Healy, 1987). Usled ishemije dolazi do ćelijske smrti kardiomiocita, kako usled nekroze, tako i usled apoptoze i autofagije (Frangogiannis 2012). Ukoliko dođe do uspostavljanja protoka krvi, može doći do reperfuzione povrede miokarda usled pojačane produkcije ROS, kao i aktivacije odgovarajućih signalnih mehanizama (Eltzschig and Eckle, 2011). Molekularni obrasci povezani sa oštećenjem tkiva (engl. *danger-associated molecular patterns* – DAMPs) predstavljaju supstance koje učestvuju u procesu inflamacije i nastaju iz oštećenog ekstracelularnog matiksa, kao i oslobađanjem sadržaja iz nekrotičnih ćelija i oštećenih ćelija kardiomiocita, fibroblasta i aktiviranih leukocita (Prabhu and Frangogiannis, 2016). DAMPs se vezuju za odgovarajuće receptore – PRRs (engl. *pattern recognition receptors*), i na taj način započinju aktivaciju inflamatornih ćelija, te dolazi do nakupljanja leukocita čime se započinje aktivacija inflamatornih citokina, hemokina i ekspresija adhezionih molekula (Timmers 2012; Ghigo et al., 2014).

Postoji nekoliko vrsta PRRs, i to su: receptori slični Toll-u (engl. *Toll-like receptors* – TLRs), lektinski receptori tipa C (engl. *C-type lectin receptors* – CLRs), slični NOD-u receptori (engl. *NOD-like receptors* – NLRs), slični RIG-u receptori (engl. *RIG-I-like receptors* – RLRs), kao i receptori za krajnje proizvode napredovale glikacije (engl. *receptor for advanced glycation end products* – RAGE) (Pluijmert et al., 2021). Nakon vezivanja za DAMPs, ovi receptori aktiviraju inflamatorne signalne puteve, i to su: nuklearni faktor κ B (NF- κ B), proteinske kinaze aktivirane mitogenima (MAPK), kao i puteve interferona tip 1. Dalje dolazi do sekrecije protivupalnih citokina i hemokina (poput IL-6, IL-8, intergeron tip 1 i faktor nekroze tumora alfa), što za posledicu ima privlačenje imunih ćelija na mesto povrede (Kologrivova et al., 2021).

DAMPs se mogu klasifikovati prema intraćelijskom poreklu, te mogu poticati iz citoplazme, endoplazmatskog retikuluma ili mitohondrija, poput: grupna kutija visoke mobilnosti (engl. *high mobility group box-1* – HMGB1), proteini toplotnog šoka (engl. *heat shock proteins* – HSPs), S100 proteini, nuklerana i mitohondrijalna DNA i RNA, adenozin trifosfat, kromogranin A, histoni, mokraćna kiselina, feritin, i drugi. DAMPs mogu biti i proteini ekstracelularnog matiksa, poput kolagena, fibrinogena, elastina, fibronektina, i drugi (Roh and Sohn, 2018).

Nakon inflamatorne faze sledi faza oporavka i profilerativna faza, koje omogućavaju dalji oporavak miokarda. Intaktan miokard učestvuje u procesu remodelovanja. Glavni cilj daljeg oporavka miokarda jeste sprečavanje njegovih komplikacija, poput rupture zida miokarda, kao ograničavanje pogoršanja funkcije LV. Antiinflamatorni signali, smanjenje broja neutrofila, profileracija fibroblasta kao i granulacija tkiva preuzimaju ulogu u daljem procesu (Kologrivova et al., 2021).

Faza maturacije je povezana sa remodelovanjem miokarda, i traje do nekoliko meseci. U zavisnosti od događaja tokom prethodnih faza, ova faza ima važnu ulogu u očuvanju miokardne funkcije. Kao posledica negativnog remodelovanja miokarda, može doći do povećane miokardne krutosti, dijastolne disfunkcije, pa i sistolne difunkcije odnosno razvitka srčane slabosti (Prabhu and Frangogiannis, 2016).

Interleukin -1 (IL-1) familija citokina se sastoji od 11 liganada i 10 receptora koji pripadaju IL-1 familiji receptora (Dinarello, 2018). IL-1 familija ima važnu ulogu u urođenom imunom odgovoru, kao i u inflamatornom odgovoru. IL-1 α , IL-1 β i IL-18 spadaju u proinflamatorne citokine, naročito u CVD (Zhang and Dhalla, 2024). IL-1 α se nalazi u epitelnim i mezenhimalnim ćelijama, u fiziološkim uslovima, i u miokardu, i do njegovog oslobađanja dolazi usled povrede ili umiranja ćelije, dok se IL-1 β više sekretuje tokom inflamacije i ima ga u većim koncentracijama kao cirkulišućeg IL-1 (Van Tassell et al., 2015). IL-1 β aktivira inflamaciju pomoću IL-6 signalnog puta i reaktanata akutne faze, poput CRP-a (McCarty and Frishman, 2014). IL-1 β dovodi do slabljenja fibrozne kape aterosklerotskog plaka, tako što aktivira MMP, što dovodi do razgradnje ekstracelularnog matiksa

(Libby and Aikawa, 1998). Postoji nekoliko supstanci koje mogu inhibirati dejstvo IL-1, kao što su anakinra (IL-1 receptor antagonist), riloncepta (IL-1 cirkulišući protein i antagonista IL-1) i canakinumaba (anti-IL-1 β antitelo), koji su trenutno dostupni. CANTOS (Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study) studija je pokazala da inflamacija posredovana IL-1 β , ima ključnu ulogu u procesu ateroskleroze i aterotromboze (Ibañez and Fuster, 2018). IL-1 učestvuje u remodelovanju miokarda nakon infarkta miokarda, što može dovesti do srčane insuficijencije (Frangogiannis, 2015; Oprescu et al., 2021). Povećane koncentracije IL1 su primećene i kod infarkta miokarda indukovano izoprenalinom (Wu et al., 2021).

TNF- α predstavlja važan marker inflamacije i postoji u dve forme u organizmu: forma povezana sa membranom (mTNF- α) i sekretovana forma (sTNF- α), koja se smatra aktivnim oblikom ovog markera (Tian et al., 2015). Pomoću TNF konvertujućeg enzima (TACE), TNF- α prelazi iz neaktivne forme u aktivnu formu. Mnoge ćelije imaju mogućnost produkcije i sekrecije ovog faktora, poput monocita, makrofaga, limfocita, glatkomišićnih ćelija, fibroblasta, endotelnih ćelija i drugih. Postoje studije koje su pokazale da povredom miokarda, poput ishemije, reperuzije, pa i hronične srčane slabosti, može nastati povećana produkcija TNF- α iz kardiomiocita pomoću NF- κ B signalnog puta (Zeng et al., 2012; Adamy et al., 2005). Svoje dejstvo ostvaruje vezivanjem za odgovarajuće receptore, TNF- α receptore (TNFR). TNFR se nalaze na membranama ćelija, i postoje dva tipa: TNFR1 koji se nalazi uglavnom na površini ćelijskih membrana i TNFR2 koji se uglavnom nalazi na površini endotelnih ćelija i hematopoetskih ćelija, a sa starenjem se smanjuje njegova koncentracija (Tian et al., 2015; Kishore et al., 2011). Faktor nekroze tumora α zajedno sa TNFR 1 se nalazi u miokardu, kako u zoni ishemije tako i u nezahvaćenim delovima miokarda, a TNFR2 se nalazi samo u zoni ishemije (Deten and Zimmer, 2002). U fiziološkim uslovima, TNF- α se ne nalazi u kardiomiocitima, dok ishemija podstiče kardiomiocite i makrofage na povećanu produkciju TNF- α (Deten and Zimmer, 2002). Zajedno sa TNFR 1 učestvuje u procesima inflamacije i remodelovanju LV nakon MI i za posledicu dolazi do apoptoze kardiomiocita i kardiotskičnih efekata. Za razliku od TNFR1, TNF- α zajedno sa TNFR2 dovodi do nishodne regulacije sekrecije inflamatornih markera, poput IL-6 and IL-1 β , i tako smanjuje inflamatorni proces i remodelovanje LV (Nilsson et al., 2013). Funkcija TNF- α je dozno-zavisna kao i vremenski zavisna. Povećana sekrecija TNF- α na duge staze ima toksične efekte na kardiomiocite, dok u malim dozama i kratkim intervalima TNF- α može imati kardioprotektivno dejstvo (Fajardo et al., 1992). U infarktu miokarda indukovanom izoprenalinom beleži se povećana koncentracija TNF- α (Hamed et al., 2020; Thangaiyan et al., 2020; Mohamed et al., 2021).

Interleukin-6 (IL-6) je proinflamatorni citokin, koji aktivira inflamatorne ćelije tokom ishemije i reperfuzije u oštećenom miokardu. Aktivira inflamatorne ćelije preko aktivacije cirkulišućeg solubilnog interleukin 6 receptora (IL6R), na monocitima, hepatocitima i endotelnim ćelijama (Naka et al., 2002). IL-6 uporedo stimuliše i hepatocite, koji pojačano sekretuju CRP (Wang et al., 2020). IL-6 može imati važnu ulogu u nastajanju koronarne bolesti putem nekoliko mehanizama, kao što su endotelni, metabolički mehanizmi i mehanizmi koagulacije (Yudkin et al., 2000). Primećeno je da IL-6 doprinosi daljem razvijanju aterosklerotskog plaka, kao i njegovoj destabilizaciji (Yudkin et al., 2000). U CVD, makrofazi, monociti, endotelne ćelije, glatke mišićne ćelije i fibroblasti proizvode IL-6 (Ridker and Rane, 2021). Pokazno je da IL-6 može da bude marker endotelne disfunkcije kao i subkliničke ateroskleroze (Moriya, 2019). IL-6 je nezavisan pokazatelj rizika od CVD (Kaptoge et al., 2014). U Mendelian studiji, inhibicijom IL6R je smanjen broj kardiovaskularnih događaja, na taj način ukazujući na mogući nov terapijski pristup radi prevencije IHD (Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis C et al., 2012). Primenom tocilizumaba, kao inhibitora IL-6R, kod pacijenata sa akutnim infarktom miokarda bez ST elevacije, registruje se smanjen inflamatorni odgovor sa smanjenom koncentracijom CRP-a i cTnT (Kleveland et al., 2016). Kod animalnih modela infarkta miokarda indukovanih izoprenalinom, primećene su povišene koncentracije IL-6 (Li et al., 2021; Takahara et al., 2021; Ozmen et al., 2022).

C-reaktivni protein (CRP) je protein akutne faze inflamacije. CRP ima nisku senzitivnost i specifičnost, i ne može se koristiti kao dijagnostički marker. FRISC (*Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease*) studija je merila nivo hsCRP-a kod 917 pacijenata sa nestabilnom anginom,

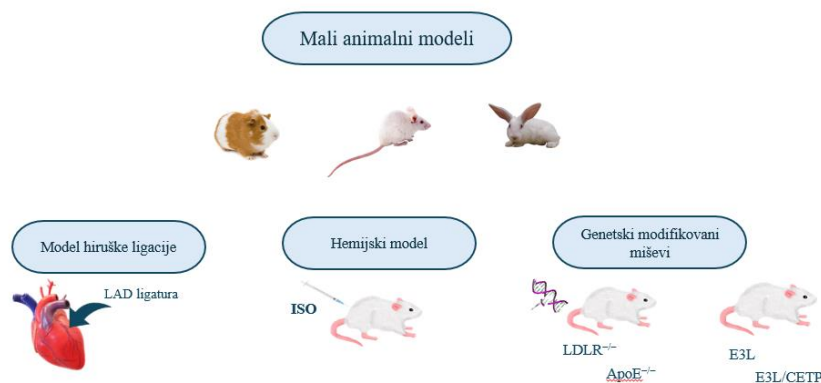
i primećeno je da su nivoi hsCRP-a > 10 mol/L unutar 24 h nakon hospitalizacije ukazivali na lošiju prognozu ovih pacijenata (Lindahl et al., 2000). Povišeni nivoi hsCRP mogu da služe na prognostički faktor odražavajući inflamaciju aterosklerotskog plaka (Anzai, 2018). Winter i saradnici su pokazali da su povišeni nivoi CRP kod pacijenata pri prijemu povezani sa povećanom incidencom ozbiljnog kardijalnog događaja unutar šest meseci (de Winter et al., 1999).

1.2 Animalni modeli infarkta miokarda

Radi boljeg razjašnjenja patofizioloških mehanizama koji su u pozadini infarkta miokarda, kao i samog toka ishemije, od velikog značaja su animalni modeli infarkta miokarda (Zaragoza et al., 2011). Preklinička ispitivanja nam omogućavaju razjašnjenja i potencijalne nove mehanizme koji su u osnovi oboljenja, strategije u prevenciji kao i u terapijskom pristupu, a kasnije i u kliničkim studijama. Za kardiovaskularna istraživanja koriste se male životinje poput miševa, pacova, hrčaka i zečeva, ponajviše usled njihove veličine, relativno lakog održavanja i skladištenja, kao i usled manjih troškova (Recchia and Lionetti, 2007). Usled njihovih veličine srca i anatomskih varijacija u koronarnoj cirkulaciji i provodnom sistemu srca (Ciszek et al., 2007; Meijler, 1985), u poređenju sa humanim srcem, veliki je procenat neuspeha tokom prelaska sa prekliničkih na klinička ispitivanja. Velike životinje poput svinje, psa i ovce, dosta su sličnije ljudima, sa manjim stepenom anatomskih varijacija u koronarnoj cirkulaciji, kao i u sprovodnom sistemu srca (Blumgart et al., 1950; Weaver et al., 1986; Maxwell et al., 1987).

Ex vivo modeli MI su kulture tkiva koje predstavljaju model između *in vitro* i *in vivo* (Clift et al., 2011). Jednostavni su i pouzdani za razumevanje molekularnih mehanizama, sprovodnog sistema miokarda, kao i radi primene novijih farmaceutskih agenasa. Takođe su bez uticaja pola, godina i farmakokinetike tokom ispitivanja (Kumar et al., 2016). Langendorff srčani model je jedan primer ovog modela. Izolovani model srca služi za bolje razumevanje posledica akutne, a i hronične ishemije, po kojima je bio poznat nemački fiziolog Skar Langendorff (de Leiris et al., 1984). Prednosti ovog modela leže u lakšem razumevanju patofizioloških promena kao i u boljoj kontroli uslova okolne sredine i otklanjanju hemodinamskih i neurohumoralnih faktora (Verdouw et al., 1998). Jedan od modela jeste i *in vitro* model izolovanih kardiomiocita (Davie et al., 2004). Prednost ovog modela leži u boljoj strategiji osmišljavanja dizajna eksperimentalnih studija *in vivo*, kao i u smanjenju korišćenja eksperimentalnih životinja (Kumar et al., 2016).

In vivo animalni modeli MI se koriste se radi boljeg razumevanja patofizioloških mehanizama bolesti, koje se ne mogu proceniti korišćenjem *in vitro* modela, niti su dozvoljeni kliničkim studijama. Animalni modeli se dele na dve podgrupe, male i velike.



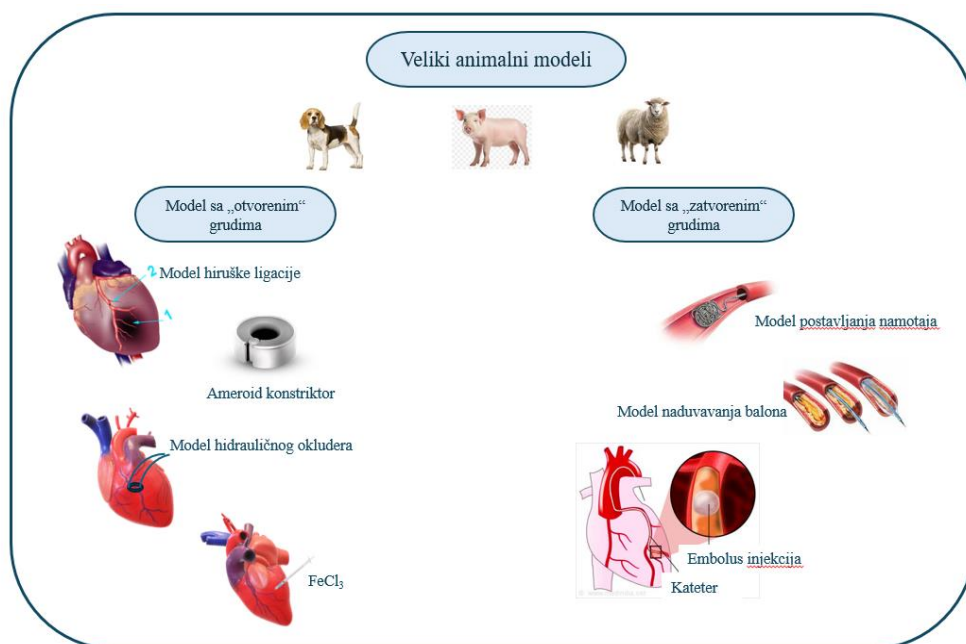
Slika 3. Mali animalni modeli

U male animalne modele spadaju (**Slika 3**):

1. model hirurške ligacije (Johns and Olson, 1954; Wang et al., 2006);
2. hemijski model – izoprenalinom indukovani MI model (Kannan and Quine, 2013; Brooks and Conrad, 2009) i
3. genetski modifikovani miševi:
 - “knockout” miševi (nedostatak gena za LDL receptor i APO lipoprotein E) (Bonthu et al., 1997; Jawień et al., 2004);
 - transgenski miševi (apoE3Leiden – E3L, ApoE, apoE3Leiden/holesterol ester transfer protein – CETP) (Leppänen et al., 1998; van der Hoorn et al., 2009).

U velike animalne modele spadaju (**Slika 4**):

1. Modeli sa „otvorenim“ grudima:
 - model hirurške ligacije (Lichtig et al., 1975);
 - ameroid konstriktor (Hughes et al., 1985);
 - model hidrauličnog okludera (Bolukoglu et al., 1992);
 - lokalna aplikacija FeCl₃ (Dogné et al., 2005).
2. Modeli sa „zatvorenim“ grudima:
 - model naduvavanja balona (Kren et al., 2010);
 - embolus injekcija (Näslund et al., 1992; Koning et al., 1993);
 - model postavljanja namotaja (Coil Deployment) (Dib et al., 2006);
 - endotelna električna povreda (Salazar, 1961; Sawyer et al., 1953).



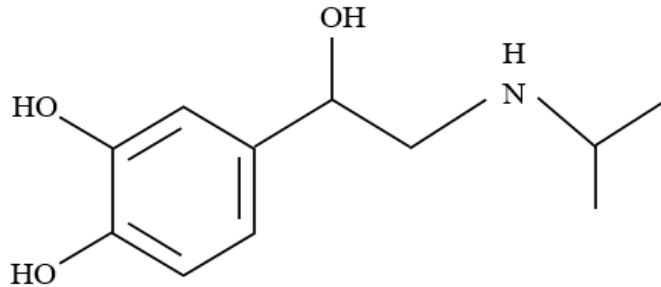
Slika 4. Veliki animalni modeli

1.2.1 Izoprenalinom indukovani MI

Izoproterenol (ISO), poznat kao i izoprenalin (**Slika 5**), jeste neselektivni β -adrenerički agonist i sintetički kateholamin i kao takav ima širok spektar efekata. ISO utiče na kontraktilnost i metabolizam miokarda, delujući na β_1 - i β_2 -adrenoreceptore u miokardu, i tako ostvaruje pozitivne hronotropne i inotropne efekte (Headrick et al., 2000). Izoproterenol delujući na β_1 -adrenoreceptore ostvaruje svoje pozitivno hronotropno i inotropno dejstvo na srce, a stimulacijom β_2 -adrenoreceptora ostvaruje bronhodilataciju i vazodilataciju glatkomišćnih ćelija, i na taj način smanjuje perifernu vaskularnu rezistencu i dijastolni krvni pritisak. ISO dat u velikim dozama rezultuje tahikardijom i

smanjenjem dijastolnog krvnog pritiska, što za posledicu ima smanjenje protoka krvi u koronarnim krvnim sudovima, a time može dovesti do ishemije miokarda kod pacijenata sa koronarnom bolešću (Beregovich et al., 1972). Izoprenalinom indukovan infarkt miokarda kao animalni eksperimentalni model za MI je široko korišćen model radi dalje evaluacije potencijalnih željenih efekata različitih supstanci na kardijalnu funkciju (Mohanty et al., 2004). Prednost ovog modela u odnosu na hirurške modele je u smanjenom moratlitetu, jednostavnijem pristupu i smanjenju broja komplikacija, kao npr. infekcije nakon hirurških intervencija (Kumar et al., 2016).

Slika 5. ISO



ISO se primenjuje subkutano kao pojedinačna doza 85 mg/kg telesne mase tokom dva uzastopna dana. Primećeno je da ispoljava slične morfološke, biohemijske i metaboličke efekte, koji se dešavaju i u MI kod čoveka (Murugesan et al., 2012; Gupta et al., 2013). Dejstvom na β -adrenoreceptore, ISO dovodi do tahikardije, periferne vazodilatacije, oksidativnog stresa, lipidne peroksidacije, pojačane inflamacije, povećanog nakupljanja Ca^{2+} i intracelularne acidoze, što dalje vodi ka oštećenju LV, hipertrofiji LV, fibrozi i nekrozi miokarda (Bloom et al., 1969; Bloom et al., 1972; Rajadurai et al., 2006; Shizukuda et al., 1998; Li et al., 2006; Dhalla et al., 2000). Primenom izoprenalina dolazi do pojave kardiotoksičnosti, a u osnovi se nalaze mehanizmi poput oksidativnog stresa, apoptoze i inflamacije, isti mehanizmi koji se nalaze i u osnovi AIM (Tang et al., 2015; Suchal et al., 2016; Allijn et al., 2017). Usled oksidativnog stresa dolazi do smanjenog protektivnog delovanja endogenih antioksidanasa, poput katalaze, superoksid dizmutaze, glutation peroksidaze, što vodi ka povećanoj sintezi slobodnih radikala i smanjenom odbranom antioksidanasa (Geng et al., 2015; Tang et al., 2015). ISO stimulacijom β -adrenoreptora dovodi do pojačane sinteze ROS usled oštećenja kardiomiocita, smanjene produkcije antioksidanasa, miofibroze i hipertrofije leve komore (Anandan et al., 2012; Aman et al., 2012; Fathiazad et al., 2012).

1.2.2 Translokatorni protein

Translokatorni protein (TSPO) veličine od 18 kDa, sastoji se od 169 aminokiselina, i otkriven je još 1977. godine primenom radioaktivno obeleženog diazepama ($[^3\text{H}]$ diazepam), koji se vezivao za tačno određena mesta na mitohondrijalnoj membrani u perifernim tkivima pacova (Braestrup and Squires, 1977). Ova mesta su se prvobitno zvala periferni benzodiazepinski receptori (PBR). Periferni benzodiazepinski receptori se nalaze i u centralnom nervnom sistemu, a nalaze se i u perifernim tkivima koja sintetišu steroide, kao npr. adrenalne žlezde, gonade, mozak, a mogu se naći i u tkivu bubrega (Rupprecht et al., 2010). PBR su prvi put otkriveni u tkivu srca pacova 1981. godine primenom dipiridamola (Davies and Huston, 1981). Papadopoulos i saradnici su 2006. godine predložili novu nomenklaturu, koja će bolje oslikavati njegovu strukturu i mnogobrojne funkcije koje poseduje. Lokalizacija TSPO je na spoljašnjoj membrani mitohondrija (Anholt et al., 1986), a pored toga se nalazi i u plazma membrani eritrocita i neutrofila (Olson et al., 1988; Zavala et al., 1991). Pored ovoga, pronađena je i druga izoforma TSPO, koja je najvećim delom lokalizovana u hematopoetskom tkivu i ima ulogu u sazrevanju eritrocita (Fan et al., 2009).

Prisustvo TSPO proteina u srcu je potvrđeno *in vitro* i *in vivo*, upotrebom odgovarajućih radioliganada, 4'-CIDzp i PK-11195 (Le Fur et al., 1983; Gehlert et al., 1985) i kod ljudi je dokazan

upotrebom pozitron emisione tomografije (Brody et al., 2014). Ekspresija TSPO se povećava prenatalno, i dostiže svoj maksimum u srcu u 4 nedelji nakon rođenja, i tokom ostatka života se održava (Fares et al., 1987). Pomoću odgovarajućih studija, dokazano je da je ekspresija TSPO veća u komorama nego u pretkomorama miokarda (Gehlert et al., 1985; Davies and Huston, 1981; Mercer et al., 1992). U zavisnosti od patofizioloških uslova, primećena je promena jačine ekspresije TSPO. Ponavljani stres dovodi do nishodne regulacije ekspresije ovog proteina, dok akutni stres dovodi do ushodne regulacije (Morin et al., 2016).

1.2.3 Građa i uloga mitohondrija

Mitohondrije predstavljaju ćelijske organele koje su odgovorne za stvaranje energije, tj. za sintezu adenzin trifosfata (ATP) unutar ćelije, procesom oksidativne fosforilacije. Altman ih je 1893. godine opisao kao „elementarne čestice“ ili bioplasti. Nekoliko godina kasnije, Carl Benda ih opisuje kao granule koje su povezane u niti, unutar spermatozoida i dobijaju naziv mitohondrije. Kako je otkriven elektronski mikroskop, tako je struktura mitohondrija bolje opisana (Palade, 1952). Mitohondrije su sastavljene od dve membrane, unutrašnje i spoljašnje, intermembranskog prostora i matriksa. Spoljašnja membrana je u kontaktu sa citoplazmom i glatka je. Unutrašnja membrana ima mnogo nabora (kristi), koji su okrenuti prema matriksu, i samim tim ima značajno veću površinu od spoljašnje membrane (do pet puta) (Protasoni and Zeviani, 2021). Spoljašnja membrana sadrži veću količinu porina, propusnih kanala koji na taj način omogućavaju mnogim supstancama da prođu u intermembranski prostor. Unutrašnja membrana je bogata kardiolipinom koji smanjuje propustljivost ove membrane i sadrži ATP sintazu (Rich and Maréchal, 2010). U sastav matriksa ulaze proteini, ribozomi (70S) i mitohondrijalna DNK (mDNK) – koja ima sposobnost replikacije nezavisno od replikacije DNK u jedru (Protasoni and Zeviani, 2021).

Glukoza predstavlja najveći izvor energije u telu. Glukoza se procesom glikolize razlaže sve do piruvata. Odatle se nastavljaju dva puta u zavisnosti od uslova. U aerobnim uslovima se piruvat oksiduje do acetil-koenzima A (aceti-CoA), ugljen dioksida (CO₂) i nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) pod dejstvom piruvat dehidrogenaze. Potom, tako nastali acetil-CoA ulazi u ciklus limunske kiseline, poznat kao Krebsov ciklus, sa nastavkom oksidativne fosforilacije, te na kraju procesa dolazi do sinteze ATP (Thauer, 1988). Ceo ovaj proces, koji podrazumeva oksidaciju piruvata do acetil-CoA, Krebsov ciklus i oksidativnu fosforilaciju, se odigrava unutar mitohondrija. Na kraju ciklusa, od jednog molekula glukoze sve do CO₂ i H₂O, nastaje 30, tj. 32 molekula ATP u zavisnosti od toga kojim putem u respiratornom lancu ide NADH: malat-aspartatni ili glicerol-fosfatni put. U anaerobnim uslovima, piruvat se redukuje do laktata, i na taj način se dobijaju samo dva molekula ATP.

Proces oksidativne fosforilacije podrazumeva prenos elektrona sa NADH i flavin adenin dinukleotida (FADH₂) na kiseonik, i pri tome energija koja je nastala započinje proces sinteze ATP, od ADP i fosfata. Takođe, u procesu glikolize nastaje NADH iz 3-fosfogliceraldehid dehidrogenaze. NADH se transportuje do unutrašnje membrane mitohondrija pomoću dva sistema, i to: glicerol-fosfatni i malat-aspartatni sistem. U tkivu srca nije nađen glicerol-fosfatni sistem (Rodwell et al., 2018).

Respiratorni lanac se sastoji od proteinskih kompleksa koja omogućavaju prenos elektrona sa NADH ili FADH₂ na kiseonik (Genova and Lenaz, 2014). To su:

1. Kompleks I – NADH-Q oksidoreduktaza – oksidacijom NADH pod dejstvom NADH dehidrogenaze, nastaje NAD⁺, pri čemu dva elektrona učestvuju u redukciji koenzima Q (ubihinon) u ubihinol (QH₂). Energija koja pri ovom procesu nastaje, je pokretačka proton sila koja omogućava prenos protona kroz unutrašnju membranu mitohondrija;
2. Kompleks II – sukcinat-dehidrogenaza, enzim koji je deo Krebsovog ciklusa i jedini enzim vezan za samu membranu;
3. Kompleks III – Q-citohrom c oksidoreduktaza – prenosi elektrone sa ubihinola na citohrom c. Sastoji se od 3 subjedinice: citohrom b, citohrom c1 i gvožđe-sumpor proteina;

4. Kompleks IV – citohrom oksidaza, koja omogućava prenos elektrona sa kompleksa tri do O_2 i tako nastaje H_2O_2 .

Kanal koji omogućava prolazak protona je osnovni element ATP sintaze. Da bi se kiseonik redukovao do vode, potrebna su četiri elektrona i četiri vodonikova jona. Da bi nastao 1 molekul ATP, kroz kanal je potrebno da prođe četiri vodonikova jona nazad u intermembranski prostor. Prenos elektrona kroz respiratorni lanac mitohondrija, sa NADH-a ili sa $FADH_2$ na O_2 ima za posledicu prolazak vodonikovih jona, tj. protona u intermembranski prostor i tako nastaje gradijent koncentracije protona i transmembranski električni potencijal (Zorova et al., 2018).

U uslovima ishemije dolazi do smanjenog stvaranja energije, a usled nedostatka glukoze smanjeno je i stvaranje ATP i posledično dolazi do disfunkcije ćelije. Usled smanjenog kiseonika i smanjenog ATP, pokreće se anaerobni metabolizam, gde iz glikogena procesom glikolize dolazi do stvaranja piruvata, a potom i laktata. Posledično dolazi do smanjenja intraćelijskog pH (Bugger and Pfeil, 2020). Usled smanjenja koncentracija ATP, i povećane koncentracije protona unutar ćelije, aktivira se Na^+/H^+ kotransporter, koji pokušava da izbacuje višak protona, a samim tim dolazi do pojačanog nakupljanja Na^+ unutar ćelije. Usled smanjene aktivnosti Na^+/K^+ ATP-aze usled smanjenja ATP, nastavlja se nakupljanje Na^+ . Potom dolazi do aktivacije Na^+/Ca^{2+} kotransportera, koji izbacuje natrijum iz ćelije, ali dolazi do pojačanog nakupljanja kalcijuma unutar ćelije (Ramachandra et al., 2020). Kao posledica intraćelijskog nakupljanja Ca^{2+} , dolazi do aktivacije mitohondrijskog kalcijumskog uniportera (MCU) (De Stefani et al., 2011), te dolazi do pojačanog nakupljanja kalcijuma unutar mitohondrija, do depolarizacije mitohondrija i pojačanog otvaranja mitohondrijalne permeabilizacijske pore, samim tim i narušavanja same mitohondrijalne membrane i nastanka elektrohemijjskog i pH gradijenta koji su važni za proces oksidativne fosforilacije (Ramachandra et al., 2020).

1.2.4 Mitohondrijalna permeabilizacijska pora i TSPO

Mitohondrijalna permeabilizacijska pora (mPTP) je multiproteinski kompleks koji se nalazi na spoju unutrašnje i spoljašnje mitohondrijalne membrane (Halestrap, 1999). U sastav mPTP ulazi (Casellas et al., 2002):

1. 32 kDa voltažno zavisni jonski kanal (engl. *voltage-dependent anion channel* – VDAC) – nalazi se na spoljašnjoj membrani;
2. kreatin kinaza (engl. *mitochondrial creatine kinase* – MtCK) – koja je lokalizovana u intermembranskom prostoru;
3. heksokinaza – koja se nalazi u citosolu;
4. 30 kDa adeninska nukleotidna translokaza (engl. *adenine nucleotide translocator* – ANT) – lokalizovana je na unutrašnjoj membrani;
5. ciklofilin D (Cyp-D) – unutar matriksa i povezan je sa ANT;
6. TSPO.

VDAC je 31 kDa protein koji se nalazi na spoljašnjoj mitohondrijalnoj membrani, klasifikovan kao porin koji omogućava prolazak malih hidrofилnih jona i metabolita kroz spoljašnju membranu (Benz, 1994). On omogućava prolazak molekula koji su manji od 1,5 kDa (Becker and Wagner, 2018; Magrì et al., 2018). VDAC je odgovoran za prolazak Ca^{2+} ka intermembranskom prostoru iz citoplazme, pod kontrolom ATP i ostalih regulatornih faktora (Morciano et al., 2021). Postoje tri izoforme VDAC, i to su VDAC1, VDAC2 i VDAC3 (De Pinto et al., 2010). Za sad izoforme VDAC 2 i VDAC 3 nisu detaljno istražene, dok je primećeno da je VDAC 1 izoforma prisutna u većem broju ćelija i najviše učestvuje u transportu Ca^{2+} u intermembranski prostor (Magrì et al., 2018; Shoshan-Barmatz and Golan, 2012). VDAC, zajedno sa heksokinazom i kreatin kinazom, pretvara ATP u energiju koju može da skladišti, poput glukoza-6-fosfata i kreatin fosfata, i omogućava ulazak supstrata za proces oksidativne fosforilacije, poput piruvata, malata, sukcinata i NADH (Shoshan-Barmatz et al., 2010).

Adenin nukleotid translokaza (ANT) ili adenin nukleotidni nosač (ANC) je transporter koji omogućava prolazak ATP i ADP kroz unutrašnju mitohondrijalnu membranu (Chen et al., 2023). Kod ljudi su opisane četiri izoforme ANT (ANT 1 – 4) koje su lokalizovane u određenim tkivima (Broun et al., 2020). ANT1 i ANT2 su opisani kod miševa, a ANT3 je pronađen i kod ljudi, gde su ANT 1 i 3 lokalizovani i u kardiomiocitima (Fiore et al., 1998). Pored uloge u razmeni ATP/ADP kroz unutrašnju mitohondrijalnu membranu, učestvuje u odvajanju (*uncoupling*) zavisnom od masnih kiselina usled izlaska protona (Brustovetsky and Klingenberg, 1994). Tokom procesa oksidativne fosforilacije, energija koja je nastala se ne koristi u celosti za sintezu ATP, već se deo troši i tokom zagrevanja, i deo protona „curi“ kroz unutrašnju membranu preko odvajajućih proteina (engl. *uncoupling proteins* – UCPs), što može imati značaj u fiziologiji ćelije (Chen et al., 2023). Baines i Molkenin su 2009. godine pokazali da je pojačana ekspresija ANT1 u kardiomiocitima povezana sa pojačanom ROS produkcijom i aktivacijom proapoptotskog proteina Bax.

Ciklofilini (CyPs) su familija proteina sa peptidil-proлил cis-transizomernom aktivnošću (PPIase) (Giorgio et al., 2010). Kod ljudi postoji 17 izoformi ovih proteina, od kojih sedam ima najveću ulogu (Wang and Heitman, 2005). CyPD je izoforma CyP koja ulazi u sastav mitohondrijalne pore (Szabó and Zoratti, 1991). Sve je više studija koje ukazuju na ulogu CyPD u otvaranju mPTP i učestvovanju u mitohondrijalnoj homeostazi Ca^{2+} i niske provodljivosti (Javadov et al., 2017). Pokazano je da se inhibicijom CyPD sa ciklosporinom A smanjuje izlazak Ca^{2+} iz mitohondrija kardiomiocita pacova (Altschuld et al., 1992; De Marchi et al., 2014). Sprovedena je velika multicentrična klinička studija koja je ispitivala efekte ciklosporina A kao inhibitora mPTP, i nije pokazala protektivne efekte u kliničkim ishodima kod pacijenata sa infarktom miokarda (MI) (Cung et al., 2015). Pored uloge u homeostazi Ca^{2+} , CyPD učestvuje i u regulaciji mitohondrijalnog genoma (Radhakrishnan et al., 2015), kao i oksidativnoj fosforilaciji (Chinopoulos et al., 2011), Krebsovom ciklusu i respiratornoj funkciji (Tavecchio et al., 2015). Takođe, učestvuje u homeostazi glukoze i insulinskoj rezistenciji (Tubbs et al., 2014).

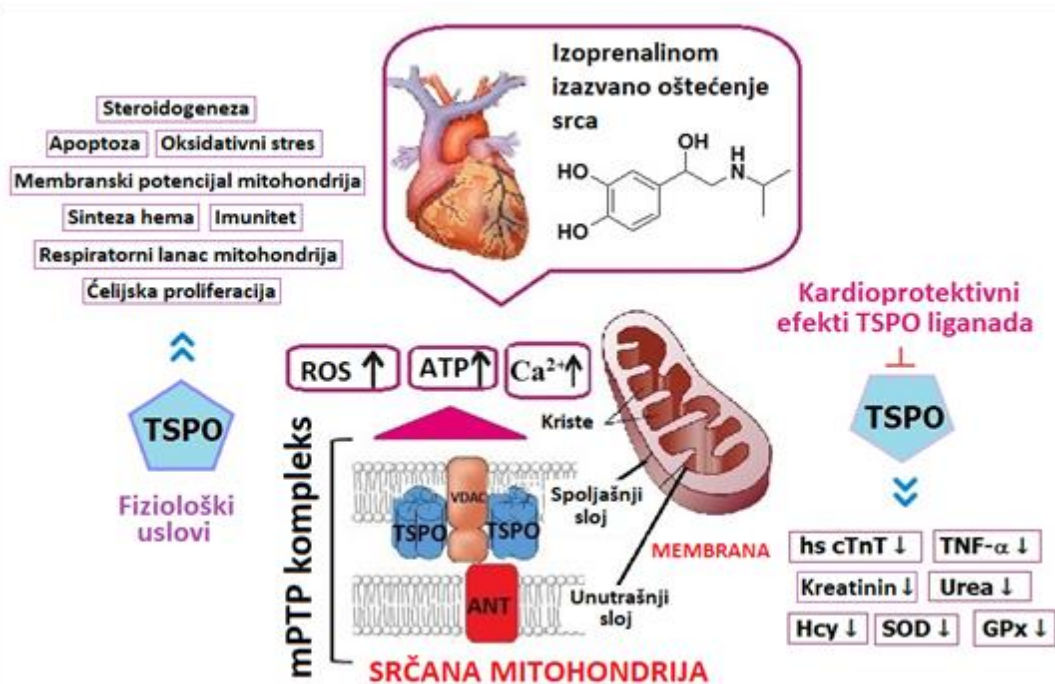
Prolazak Ca^{2+} kroz unutrašnju membranu je regulisan putem tri mehanizma: mitohondrijalni Ca^{2+} uniporter (MCU), brz ulazak Ca^{2+} (RaM) i mitohondrijalni rijanodin receptor (mRyR) (Morciano et al., 2021). Takođe su predložena tri mehanizma izlaska Ca^{2+} kroz unutrašnju mitohondrijalnu membranu, a to su: $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kotransporter (NCXm), $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ kotransporter (HCXm) i mPTP (Morciano et al., 2021).

1.2.5 TSPO i oksidativni stres

Pod patofiziološkim uslovima, dolazi do pojačane produkcije superoksidnog anjona tokom oksidativne fosforilacije na respiratornom lancu mitohondrija. Povećana produkcija superoksidnog anjona kod infarkta miokarda doprinosi oštećenju kardiomiocita i miokardnoj disfunkciji. Pojačanoj produkciji ROS doprinosi i pojačana ekspresija i aktivnost NOX, koja se dešava pod dejstvom nekoliko stimulanasa poput miokardnog naprezanja, endotelina 1, angiotenzina II i TNF- α . Kao što je već ranije spomenuto, postoji nekoliko izoformi NOX, od kojih se NOX2 i NOX4 nalaze u srcu (Nabeebaccus et al., 2022). NOX4 preko nuklearnog eritroidnog 2 sličnog faktora učestvuje u procesu oksidativnog stresa (**Slika 6**) (Peoples et al., 2019; Kuroda et al., 2010). Povećana aktivnost ksantin oksidaze vodi ka povećanoj produkciji ROS i oštećenju miokarda. Usled miokardnog oštećenja, NOS postaje strukturno nestabilan i to za posledicu ima dalju povećanu produkciju ROS (van der Pol et al., 2019). Povećana produkcija ROS vodi ka kontraktilnoj disfunkciji, dilataciji leve komore i remodelovanju leve komore. Antioksidansi poput superoksid dismutaze, katalaze, glutation peroksidaze, glutationa i nikotinamida jesu glavni odbrambeni sistemi odgovorani za inhibiciju štetnih efekata ROS. Rađene su studije koje su pokazale lošiji ishod kod genetski modifikovanih miševa, koji su bili bez SOD ili GPx tokom miokardne povrede u poređenju sa kontrolama (Forgione et al., 2002; Shiomi et al., 2004). Među „čistače“ ROS spada i fosforilisani par $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$, čiji prekursor je NAD^+ . Pored uloge „čistača“ ROS, NAD^+ ima ulogu u produkciji energije (van der Pol et al., 2019). Smanjen nivo NAD^+ se nalazi i u AIM, a njegovo kardioprotektivno dejstvo je posredovano NAD^+ zavisnim sirtuinima (SIRT). SIRT predstavlja familiju enzima koji učestvuju u regulaciji

metabolizma masti kao sekundarni glasnici u putu Ca^{2+} u regulaciji mitohondrijalne acetilacije lizina. Nedostatak ovih enzima ogleda se u mnogim bolestima srca, posebno u AIM (Yao et al., 2023). Pored NAD^+ , jedan od antioksidanasa je i GSH, koji učestvuje u uklanjanju produkata lipidne peroksidacije. Nakon oštećenja miokarda, kod eksperimentalnih životinja nađene su smanjene koncentracije GSH (Adamy et al., 2007).

U fiziološkim i patofiziološkim uslovima, miokard poseduje adaptivni odgovor radi očuvanja kontraktibilnosti i samim tim funkcije srca. Kardijalna disfunkcija nastupa kada ponestane odbrambenih mehanizama u datim patofiziološkim uslovima. U uslovima pojačanog oksidativnog stresa dolazi do aktiviranja različitih signalnih puteva kao odgovora na date uslove. U slučaju neadekvatnog odgovora, dolazi do aktiviranja apoptotskih signalnih puteva. Citohrom C (CytC) je protein koji se nalazi između unutrašnje i spoljašnje mitohondrijalne membrane i omogućava transport elektrona duž respiratornog lanca između III i IV kompleksa, a pored toga učestvuje i kao “čistač” vodonik peroksida (Santucci et al., 2019). U slučaju pojačanog oksidativnog stresa CytC se vezuje za kardiolipin, kao sastavni fosfolipid mitohondrijalne membrane, menjajući joj strukturu, što dovodi do peroksidacije kardiolipina, i posledičnog oslobađanja CytC iz mitohondrija u citosol i aktiviranja unutrašnjeg puta procesa apoptoze tzv. kaspaza-zavisnog mitohondrijalnog puta (Li et al., 2019). Oslobođen u citoplazmi, CytC se vezuje za apoptotski preteaza aktivni faktor 1 (Apaf-1), aktivira kaspaze i formira apoptozome koji dalje vode ka apoptozi (Zamaraev et al., 2017).



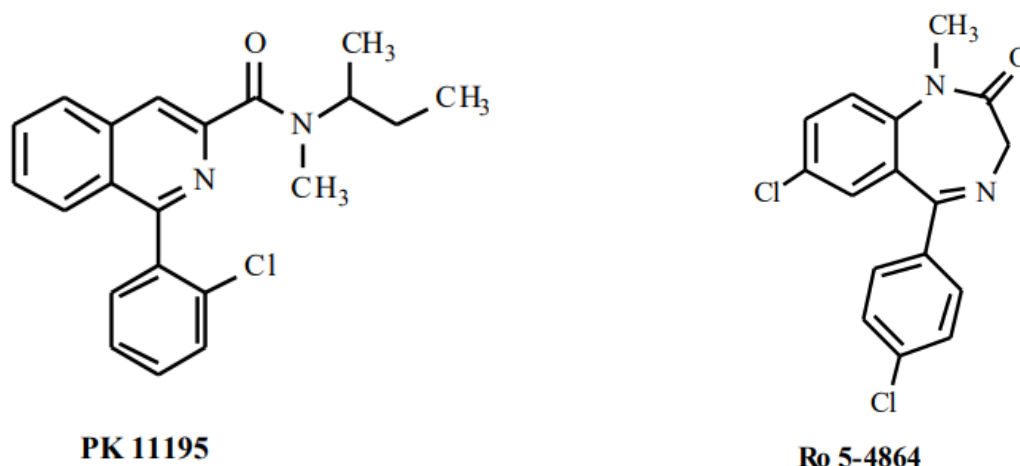
Slika 6. Shematski prikaz pretpostavljenih uloga TSPO u izoprenalinom izazvanom oštećenju miokarda. Prikazane su brojne funkcije TSPO, kako u fiziološkim tako i u potencijalnim kardiprotektivnim efektima TSPO liganada (endogeni – protoporfirin IX i sintetičkih - PK11195). TSPO se nalazi na spoljašnjoj membrani, u sastavu mPTP i taj način omogućava njegovu modulatornu ulogu tokom RIRR procesa (ROS - indukovano oslobađanje ROS). TSPO učestvuje u aktivaciji različitih signalnih puteva (NOX4, NLRP3), što vodi ka oksidativnom stresu, inflamaciji i remodelovanju, karakteristično za oštećenje miokarda. TSPO – translokatorni protein; VDAC – voltažno zavisni jonski kanal; ANT – adeninski nukleotidni translokator; ROS – reaktivne kiseonične vrste; ATP – adenozin trifosfat; Ca^{2+} – jon kalcijuma; hs cTnT – visoko senzitivni kardijalni troponin T; TNF- α – faktor nekroze tumora alfa; Hcy – homocistein; SOD – superoksid dismutaza; GPx – glutation peroksidaza.

Proteini toplotnog šoka (engl. *heat shock proteins* – Hsp) predstavljaju odbrambene mehanizme i učestvuju u inhibiciji apoptoze, posebno Hsp27, koji vezuje CytC i sprečava njegovo vezivanje za Apaf-1, a samim tim sprečava aktivaciju unutrašnjeg puta aktivacije procesa apoptoze (Latchman, 2001). Hsp 90 se vezuje za Apaf-1 i tako sprečava vezivanje za CytC, a vezuje se za eNOS i dovodi do pojačane produkcije NO, a Hsp70 sprečava strukturne promene Apaf-1 i vezivanje sa prokaspazom-9 i tako pokazuje kardioprotektivna dejstva (Vogt et al., 2011; Latchman, 2001). Oksidativni stres u mitohondrijama pokreće kaskadu signala koji dovode do oštećenja oksidativne fosforilacije i posledično do promene u sintezi ATP, a samim tim pojačanog ulaska Ca^{2+} i povećane permeabilnosti membrane (Barbour and Turner, 2014). Proces sinteze ATP je regulisan membranskim potencijalom mitohondrija, odnosno transportom elektrona duž respiratornog lanca, gde prolazak elektrona kroz kanal zajedno sa kiseonikom dovodi do produkcije superoksidnog anjona (Turrens, 2003). Odbrambeni mehanizmi u fiziološkim uslovima omogućavaju redoks ravnotežu. Tokom ishemije miokarda pojačana produkcija ROS pojačava oksidativni stres. Pretpostavlja se da je TSPO jedan od faktora koji učestvuje u ROS indukovanom ROS oslobađanju (engl. *ROS-induced ROS release* – RIRR) (Motloch et al., 2015). RIRR predstavlja proces u kome se mala količina ROS stvara unutar mitohondrija i vodi ka oštećenju i tako pojačava oksidativni stres (Zorov et al., 2014). RIRR zavisi od TSPO uticaja na mPTP kao i na unutrašnju mitohondrijalnu membranu (Brady, 2006; Motloch et al., 2015). Pojačana oksidacija u kardiomiocitima nakon ishemije vodi ka pojačanoj sintezi ROS, nestabilnosti mitohondrijalnog membranskog potencijala i skraćanju akcionog potencijala, što vodi ka pojavi aritmija (Motloch et al., 2015). Na ove promene uzrokovane ROS može se uticati putem TSPO liganada, poput PK-11195, 4'-CIDzp i PPIX (Motloch et al., 2015).

1.2.6 TSPO ligandi

Kako endogene tako i sintetičke supstance su upotrebljene radi ispitivanja funkcije i strukture TSPO. Kao glavni endogeni ligand je poznat holesterol, a pored su i protoporfirin (PPIX), hem, tetrapirrol i vezujući inhibitor polipeptida diazepama (engl. *polypeptide diazepam binding inhibitor* – DBI) (Berroterán-Infante et al., 2019). Holesterol se vezuje za TSPO, tačnije za C terminalni deo pomoću odgovarajućih aminokiselina (engl. *interaction amino acid consensus* – CRAC) sa nanomolarnim afinitetom (Bonsack and Sukumari-Ramesh, 2018; Rupprecht et al., 2010). Sa mikromolarnim afinitetom za TSPO se vezuje DBI, koji zajedno sa svojim proteolitičkim produktima i TSPO stimuliše stereoidogenezu (Berroterán-Infante et al., 2019; Bonsack and Sukumari-Ramesh, 2018). Porfirin, od kojih je najpoznatiji hem, ima nanomolarni afinitet za TSPO. Pod uticajem oksidativnog stresa, dolazi do sinteze slobodnih formi porfirina, a interakcija PPIX i TSPO predstavlja odbrambeni mehanizam (Bonsack and Sukumari-Ramesh, 2018).

U TSPO ligande sa velikim afinitetom spadaju N, N-diheksil-2-(4-fluorofenil) indol-3-acetamid (FGIN-1-27), PK-11195 i benzodiazepin 4'-hlordiazepam (4'-CIDzp, ili Ro5-4864) (Berroterán-Infante et al., 2019). PK-11195 i 4'-CIDzp poseduju nanomolarni afinitet za TSPO i imaju ulogu u proučavanju morfologije, a i funkcije TSPO (Berroterán-Infante et al., 2019) (**Slika 7**).



Slika 7. Strukturni prikaz TSPO liganda – PK-11195 i 4'-CIDzp

Za proučavanje funkcije TSPO se mogu koristiti i drugi ligandi poput hinilon karboksamid (VC198M), fenoksifenil acetamid (DAA1106), benzodiazepin (diazepam), benzotiazepin (THIA-66, THIA-67, THIA-68, THIA-4i), benzoksazapin (OXA-17f, OXA-17j), imidazopiridin acetamid (alpidem), fenoksifenil acetamid (DAA1097, DAA1106), pirozol-pirimidin acetamid (PYRA-3j, pyra-3q, PYRA-4d, PYRA-4j) (James et al., 2006). Radioligand VC198M se koristi za proučavanje strukture TSPO, a za *in vivo* proučavanje koriste se pirozol-pirimidin acetamid i imidazolpiridin acetamid (James et al., 2006). Uloga TSPO može biti dijagnostička i terapijska. PK-11195 deluje značajno na vazodilataciju u izolovanoj aorti pacova, te samim tim može imati i potencijalno terapijsko sredstvo (Bojic et al., 2021). U metabolizmu holesterola, TSPO ligandi poput etifoksina i XBD173 su pokazali značajne efekte, kao i antioksidativne osobine (Biswas et al., 2018).

Brojne studije su pokazale fiziološku ulogu TSPO u srcu, tačnije ulogu TSPO u srčanoj frekvenci i kontraktilnosti, ali efekti su kontroverzni usled različitih podataka (Surinkaew et al., 2011). TSPO ligandi mogu ispoljiti pozitivne i negativne inotropne efekte, kao što ne moraju uopšte uticati na kontraktilnost miokarda, u zavisnosti od eksperimentalnog modela, vrste kao i koncentracije samog TSPO liganda (Surinkaew et al., 2011). Diskrepanca u podacima se najviše ogleda kod primene PK-11195 i 4'-CIDzp, u zavisnosti od prirode liganda i njegovog delovanja kao agonist/antagonist. TSPO ligandi takođe mogu uticati i na frekvencu, no u malim dozama nemaju efekat, dok pri velikim dozama dovode do negativnog hronotropnog efekta (Morin et al., 2016). 4'-CIDzp i TRO40303 pozitivno deluju na doksorubicinom indukovanu disfunkciju miokarda, tako što inhibiraju produkciju ROS i otvaranje mPTP (de Tassigny et al., 2013). 4'-CIDzp ima antioksidativno dejstvo, smanjuje nakupljanje holesterola i pozitivno utiče na mitohondrijalnu funkciju (Paradis et al., 2013). Vinpocetin, kao jedan od TSPO liganda, ima antioksidativno i kardioprotektivno dejstvo, te se kod ISO indukovanoj MI registruje smanjena aktivnost CAT, SOD, GPx i GSH (Ansari et al., 2019). Takođe, primenom ovog liganda registruju se niže vrednosti TnT i CK-MB, i smanjuje se oštećenje kardiomiocita usled primene izoprenalina (Ansari et al., 2019). 4'-CIDzp ima kardioprotektivna dejstva, tako što smanjuje opterećenje Ca^{2+} i samim tim smanjuje pojavu aritmija (Brown et al., 2008). Takođe, 4'-CIDzp smanjuje ventrikularnu hipertrofiju kod infarkta miokarda indukovanoj izoprenalinom tako što inhibitorno deluje na produkciju ROS (Jaiswal et al., 2014). Seidlmayer i saradnici su pokazali da primena PK-11195 tokom ishemije i reperfuzije nije imala kardioprotektivna dejstva, dok davanjem ovog TSPO liganda samo tokom reperfuzije dolazi do smanjenja smrti ćelija usled RIRR i usled održavanja balansa Ca^{2+} tokom reperfuzije (Seidlmayer et al., 2021).

2. Ciljevi istraživanja

Ciljevi ovog istraživanja su bili da se:

1. u grupi zdravih eksperimentalnih životinja (kontrolna grupa) i u grupi životinja tretiranih izoprenalinom (I grupa) ispituju efekti induktora infarkta miokarda izoprenalina na: mortalitet, promene telesne mase (TM), kardiosomatski indeks (KSI), koncentraciju serumskih markera oštećenja srčanog mišića pacova: hsTnT, LDH, AST i CK; markere oksidativnog stresa u homogenatu srca pacova: aktivnosti enzima glutation peroksidaze (GPX), superoksid dismutaze (SOD), koncentraciju ukupnog glutationa (GSH), i ukupnu S – glutationilaciju proteina; markere inflamacije u serumu pacova (IL-1, IL-6, IL-10, TNF); markere hemostaze u plazmi pacova (fibrinogen i von Wilebrand faktor); biohemijske markere u serumu pacova (homocistein, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, ukupni proteini, albumin, ukupni holesterol, HDL, trigliceridi, alanin aminotransferaza (ALT), alkalna fosfataza, alfa amilaza); patohistološke promene u srcu pacova (prisustvo fibrina u infarktnom polju, površina infarktne polja), radi potvrde animalnog modela AMI.

2. u grupi zdravih eksperimentalnih životinja (kontrolna grupa) i u modelu infarkta miokarda pacova izazvanog izoprenalinom, ispituju efekti fiziološkog rastvora (IFR grupa), efekti modulacije translokatornog proteina primenom PK-11195 i efekti koaplikacije modulatora translokatornog proteina primenom PK-11195 i inhibicije NO sintaze – N-nitro-L-Arginin metil estar (L-NAME), na: mortalitet, TM, KSI, koncentraciju serumskih markera oštećenja srčanog mišića pacova: hsTnT, LDH, AST i CK; markere oksidativnog stresa u homogenatu srca pacova: aktivnosti enzima GPX, SOD, koncentraciju GSH, i ukupnu S – glutationilaciju proteina; markere inflamacije u serumu pacova (IL-1, IL-6, IL-10, TNF); markere hemostaze u plazmi pacova (fibrinogen i von Wilebrand faktor); biohemijske markere u serumu pacova (homocistein, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, ukupni proteini, albumin, ukupni holesterol, HDL, trigliceridi, ALT, alkalna fosfataza, alfa amilaza); patohistološke promene u srcu pacova (prisustvo fibrina u infarktnom polju, površina infarktne polja).

3. u modelu infarkta miokarda pacova izazvanog izoprenalinom, ispituju efekti modulacije translokatornog proteina primenom 4'-hlorodiazepama (4'-CIDzp), i efekti koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, na: mortalitet, TM, KSI, koncentraciju serumskih markera oštećenja srčanog mišića pacova: hsTnT, LDH, AST i CK; markere oksidativnog stresa u homogenatu srca pacova: aktivnosti enzima GPX, SOD, koncentraciju GSH, i ukupnu S – glutationilaciju proteina; markere inflamacije u serumu pacova (IL-1, IL-6, IL-10, TNF); markere hemostaze u plazmi pacova (fibrinogen i von Wilebrand faktor); biohemijske markere u serumu pacova (homocistein, urea, kreatinin, mokraćna kiselina, ukupni proteini, albumin, ukupni holesterol, HDL, trigliceridi, ALT, alkalna fosfataza, alfa amilaza); patohistološke promene u srcu pacova (prisustvo fibrina u infarktnom polju, površina infarktne polja).

3. Materijal i metode

3.1 Eksperimentalne životinje

U eksperimentima su korišćeni mužjaci pacova, soja Wistar albino, starosti 15–20 dana na početku eksperimenta i početne telesne mase oko 200 g. Eksperimentalne životinje su nabavljene iz akreditovanog Vivarijuma Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Pacovi su bili čuvani u pleksiglas-transparentnim kavezima u parovima (dve životinje po kavezu) sa dnom obloženim šuškom, sa hranom i vodom dostupnom *ad libitum* i konstantnim ambijentalnim uslovima (temperatura $21\pm 2^{\circ}\text{C}$; vlažnost vazduha $55\pm 5\%$; ciklusom svetlo–tama na 12 h sa početkom svetlog perioda u 07:30 h). Adaptacioni period na laboratorijske uslove je trajao tri dana.

Svi eksperimentalni postupci su bili izvedeni u skladu sa Evropskom direktivom o dobrobiti laboratorijskih životinja koja se koristi u eksperimentalne i druge naučne svrhe (br. 86/609/EES) i odobreni su od strane Etičkog komiteta za brigu o životinjama, Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, Uprava za veterinu, Republike Srbije (rešenje broj: 323-07-00412/2020-05).

3.2 Eksperimentalne grupe

Sve eksperimentalne životinje (ukupno 66) podeljene su u osam grupa (sa osam ili deset životinja u svakoj pojedinačnoj grupi).

- 1) grupa K (n = 8) je kontrolna grupa koja je dobila tretman fiziološkim rastvorom (f.r.) 0,2 mL s.c. dva puta u intervalu od 24 h;
- 2) grupa I (n = 10) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda primenom izoprenalina (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h);
- 3) grupa IFR (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda i tretmanom sa fiziološkim rastvorom. Eksperimentalne životinje u ovoj grupi su tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa fiziološkim rastvorom 0,5 mL intraperitonealno (i.p.);
- 4) grupa ILN (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda i tretmanom sa inhibitorom NO sintaze – L-NAME. Eksperimentalne životinje su u ovoj grupi tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa L-NAME (50 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.);
- 5) grupa IP (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda i tretmanom sa modulatorom TSPO – PK-11195. Eksperimentalne životinje u ovoj grupi su tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa PK-11195 (5 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.);
- 6) grupa IPLN (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda, uz tretman sa modulatorom TSPO – PK-11195 i sa inhibitorom NO sintaze – L-NAME. Eksperimentalne životinje u ovoj grupi su tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa PK-11195 (5 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.) i sa L-NAME (50 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.);
- 7) grupa IC (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda i tretmanom sa modulatorom TSPO – 4'-CIDzp. Eksperimentalne životinje u ovoj grupi su tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa 4'-CIDzp (0,5 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.);
- 8) grupa ICLN (n = 8) je eksperimentalna grupa životinja sa indukovanim infarktom miokarda, uz tretman sa modulatorom TSPO – 4'-CIDzp i sa inhibitorom NO sintaze – L-NAME. Eksperimentalne životinje u ovoj grupi su tretirane sa ISO (85 mg/kg telesne mase u 1 mL

fiziološkog rastvora, s.c. dva puta u intervalu od 24 h). Sa primenom prve doze ISO istovremeno su tretirane sa 4'-CIDzp (0,5 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.) i sa L-NAME (50 mg/kg telesne mase u fiziološkom rastvoru, i.p.).

Planirano je za svaku eksperimentalnu grupu po deset eksperimentalnih životinja. U skladu sa potrebom za eliminisanjem ekstremnih vrednosti i rezultata kod eksperimentalnih životinja koje su uginule tokom trajanja eksperimenta, prikazan je krajnji broj rezultata eksperimentalnih životinja po grupama.

3.3 Indukcija infarkta miokarda kod pacova

MI kod eksperimentalnih životinja zasnovan je na aplikaciji ISO u predelu leđa subkutano u dozi od 85 mg/kg t.m., dva puta u intervalu od 24 h, tokom dva uzastopna dana, tokom trećeg i četvrtog dana eksperimentalnog protokola. Eksperimentalni model infarkta miokarda kod pacova dokazan je analizom dinamike produkcije biomarkera ishemije miokarda u serumu (dobijen uzorkovanjem krvi iz repne vene, jednom dnevno) tokom eksperimentalnog perioda, kao i potvrđen posle žrtvovanja životinja odgovarajućim patohistološkim nalazom na srcu.

3.4 Varijable praćene u protokolu

Na početku eksperimenta kao i tokom celog protokola, sve eksperimentalne životinje su bile pod stalnim monitoringom. Telesna masa je merena prvog, trećeg i petog dana eksperimenta. Po završetku eksperimentalnog protokola, životinje su blago sedirane [acepromazin maleat 2,5 mg/kg t.m. plus 0,01 ml ketamin 10% (100 mg/ml)]. Giljotinom za pacove je izvršeno njihovo žrtvovanje, i uzeta je krv za laboratorijske analize. Krv prikupljena metodom iskrvarenja je odložena u odgovarajuće epruvete, koje su obložene odgovarajućim antikoagulansom (Na-citrat) radi dobijanja plazme, odnosno nisu obložene antikoagulansom radi dobijanja seruma. Ovako dobijeni uzorci su potom ostavljeni na sobnoj temperature tokom 15 min. Nakon toga su centrifugirani uzorci krvi, na brzini od 3.000 obrtaja/min. u trajanju od 15 min, a potom su korišćeni za analize. Srce je izolovano hirurškim putem nakon prikupljanja krvi, te je tkivo homogenizovano i cetrifugirano, radi daljih biohemijskog ispitivanja. Dobijen nadtalog je do analiza zamrznut na -80°C . Srce pacova je čuvano u odgovarajuće pripremljenim posudama sa formalinom, na sobnoj temperaturi, radi dalje patohistološke analize.

3.4.1 Određivanje biohemijskih parametara u serumu i plazmi

Na automatskom analizatoru (Dimension Xpand, Siemens, Germany), pomoću odgovarajućih komercijalnih kitova (Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., Frimley, Camberley, UK) i spektrofotometrijskom metodom su analizirani biohemijski parametri u serumu i plazmi. U serumu je meren Hcy kompetitivnim imuno-testom primenom direktne hemiluminescentne tehnologije na ADVIA Centaur XP system-u (Siemens Healthcare Diagnostics, New York, USA). Biohemijski parametri, i to: urea, kreatinin, aspartat aminotransferaza (AST), alanin aminotransferaza (ALT), laktat dehidrogenaza (LDH), kreatin kinaza (CK), α -amilaza (α -AMY), alkalna fosfataza (ALP), ukupni proteini (TP), albumin (ALB), parametri lipidnog profila (ukupni holesterol (TC), lipoproteinski holesterol velike gustine (HDL-C), trigliceridi (TG)), u serumu su izmereni pomoću komercijalnih kompleta za spektrofotometriju (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, New York, USA) na automatskom analizatoru (Dimension Xpand, Siemens, USA). Spektrofotometrijski su određivani nivoi mokraćne kiseline u serumu pomoću komercijalnih kompleta (Siemens Healthcare Diagnostics Ltd., Frimley, Camberley, UK) na biohemijskom automatskom analizatoru (Dimension Xpand, Siemens, USA). Visoko osetljivim testom je izmeren nivo hs-cTnT, koristeći automatizovani analizator Roche Cobas e601 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). U plazmi je koncentracija fibrinogena izmerena modifikovanim Klausovim testom (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany),

a aktivnost vWF je određena čestično pojačanim testom INNOVANCE® VVF Ac, pomoću BCS XP analizatora (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany).

3.4.2 Određivanje nivoa citokina u serumu

U serumu su mereni nivoi citokina (TNF- α , IL-1 β , IL-6 i IL-10) pomoću enzimskog imunoeesaja (ELISA), korišćenjem komercijalnih testova prema instrukcijama proizvođača. Krv je sakupljana iz repne vene pacova, neposredno pre žrtvovanja pacova, i uzorci su čuvani na -70°C do izvođenja testova. Pomoću standardne krive, određene pomoću poznatih vrednosti obezbeđenih rekombinantnih citokina, merena je koncentracija citokina.

3.4.3 Kardiosomatski indeks

Srca su hirurškim putem izolovana, te su potom isprana fiziološkim rastvorom i pomoću filter papira osušena. Nakon toga je izmerena masa srca, radi dobijanja kardiosomatskog indexa (KSI). KSI je količnik mase srce izražene u mg i telesne mase pacova izražene u gramima (Wang et al, 2018).

3.4.4 Priprema tkiva srca za biohemijske analize

U 50 mM RIPA puferu (engl. *Radio-Immunoprecipitation Assay*) je homogenizovano tkivo srca (50 mM TRIS-HCl pH 7,4, 1% NP-40, 0,25% natrijum deoksiholat, 150 mM NaCl, 50 mM NaF, 0,001 M DTT, 1 mM fenoksimetilsulfonil fluorid, 0,2 mM natrijum ortovanadat) sa koktelom komercijalno dostupnih inhibitora proteaza (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), i potom centrifugirano tokom 30 min na 1400 rpm, na $+4^{\circ}\text{C}$. Tako dobijeni supernatant (nadtalog) se koristio kao polazni materijal za određivanje citosolne aktivnosti superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GPX), i skladišten je na -80°C do analize.

Tkivo srca je homogenizovano u 5% sulfosalicilnoj kiselini radi određivanja koncentracije oksidovanog i ukupnog glutationa, i cetrifugirano tokom 20 min, na 3000 g i $+4^{\circ}\text{C}$. Dobijeni nadtalog je korišćen za analizu i do spektrofotometrijske analize čuvan na -80°C .

U homogenatu tkiva srca i citosolnim frakcijama radi izračunavanja koncentracije proteina, korišćen je komplet za ispitivanje proteina (engl. *Bicinchoninic Acid Protein Assay*, Sigma-Aldrich, USA). Metoda je zasnovana na kvantifikovanju smanjenja Cu^{2+} na Cu^{+} , linearno sa koncentracijom proteina u uzorku. Radi određivanja koncentracije proteina upotrebljena je standardna kriva proteina goveđeg serumskog albumina (engl. *bovine serum albumin* – BSA) izražena u jedinicama g/L.

3.4.5 Određivanje aktivnosti superoksid dismutaze

Ukupna aktivnost SOD je merena spektrofotometrijskom metodom ($\lambda = 480 \text{ nm}$) u uzorcima homogenata srca (Misra and Fridovich, 1972). Princip ove metode je zasnovan na sposobnosti SOD da spontana autooksidacija adrenalina u adrenohrom bude inhibirana, u alkalnoj sredini, pH = 10,2. U sastav reakcione smeše ulazi: 100 μL homogenata tkiva srca, 1,8 mL Tris-HCl pufera ($C = 50 \text{ mmol/L}$, pH = 10,2) i 100 μL adrenalina ($C = 0,18 \text{ g/L}$, rastvoren u 100 mmol/L HCL). Jedinica aktivnosti SOD je izražena kao aktivnost koja je dovela do 50% inhibicije autooksidacije adrenalina na 26°C . Vrednosti enzima su izražene kao jedinica enzimske aktivnosti (U) po miligramu proteina homogenata tkiva srca u datim uslovima.

3.4.6 Određivanje aktivnosti glutation peroksidaze (GPx)

Aktivnost GPx je određivana spektrofotometrijskom metodom ($\lambda = 340 \text{ nm}$) u uzorcima homogenata srca (Gunzler et al., 1974). Ova metoda se zasniva na brzini oksidacije NADPH u NADP^{+} kao mere aktivnosti GPx. Jedinica aktivnosti GPx je izražena kao aktivnost enzima potrebna da

katališe reakciju oksidacije 1 μ mola NADPH u minuti, u datim uslovima. Vrednosti aktivnosti GPx su izražene kao jedinica enzimske aktivnosti u plazmi (U/L).

3.4.7 Određivanje koncentracije oksidovanog (GSSG) i ukupnog glutationa (GSH)

Pomoću spektrofotometrije, određivane su koncentracije oksidovanog (GSSG) i ukupnog glutationa (GSH), pomoću reciklirajućeg glutation metoda. Za izračunavanje GSH, homogenat tkiva srca je inkubiran u 0,125 M pufera (NaHPO_4), zajedno sa 6 mM 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzoične kiseline) (DTNB), 6,3 mM Na-EDTA i 266 U/mL GSH reduktaze. NADPH (0,3 mM) je dodat u smesu, i potom je merena promena apsorbance na 412 nm, tokom 4 minuta na $+30^\circ\text{C}$. Pomoću standardne krive za GSH, je izmerena tačna vrednost ukupnog glutationa. Pomoću iste reciklirajuće glutation metode je određen GSSG, posle primene 2-vinilpiridina za eliminisanje redukovano GSH. Razlika između koncentracije ukupnog glutationa i koncentracije oksidovanog glutationa, predstavlja koncentraciju redukovano glutationa, i izražena je kao nmol/mg proteina.

3.4.8 Određivanje ukupne S- glutationilacije proteina u tkivu srca pacova

Pomoću Western blot analize je određivana ukupna S-glutationilacija proteina u tkivu srca. U RIPA puferu (engl. *Radio-Immunoprecipitation Assay*) (50 mM TRIS-HCl pH 7,4, 1% NP-40, 0,25% natrijum deoksiholat, 50 mM NaF, 150 mM natrijum hlorida, 1 mM fenoksimetilsulfonil fluorid, 0,2 mM natrijum ortovanadat) je homogenizovano tkivo srca zajedno sa koktelom inhibitora proteaza (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), N-etilmaleimidom (NEM), i potom centrifugirano na 10000 g, na $+4^\circ\text{C}$. Tako dobijen supernatant se koristio za dalju analizu. Na CriterionTM TGX komercijalnom gelu (4-15%) (Bio-Rad, USA), je izvedeno elektroforetsko razdvajanje proteina u odgovarajućim uslovima, i svaki uzorak je sadržao 30 μ g ukupnih proteina. U uzorku je denaturacija proteina i redukcija disulfidnih veza postignuta pomoću odgovarajućeg pufera (2x Laemmli pufer (Biorad, USA)). Na 95°C , tokom 5 min je denaturisan uzorak u ThermoMixer C (Eppendorf, Germany). Za određivanje veličine proteina korišćen je PageRulerTM Prestained Protein Ladder (Thermo Fisher Scientific, USA), sa gradacijom od 10 do 170 kDa. Korišćenjem Bio-Rad CriterionTM Cell (Bio-Rad, USA) je urađena elektroforeza (150V konstant., $+4^\circ\text{C}$). Proteini su transferovani na nitroceluloznu membranu pomoću Bio-Rad CriterionTM sistema (Bio-Rad, USA) (100V konstant., $+4^\circ\text{C}$). Dalje, su proteini detektovani inkubacijom sa specifičnim primarnim mišjim monoklonskim anti-glutation-antitelom (1:500) (Sigma-Aldrich, USA), prema uputstvu proizvođača. Potom, je usledila inkubacija sa sekundarnim kozijim anti-mišjim-antitelom (1:8000) (Abcam, Cambridge, UK). Na kraju su membrane tretirane sa ClarityTM Western ECL supstratom (Bio-Rad, USA), a pomoću hemiluminiscentnog sistema za detekciju (ChemiDocTM MP Imaging System, Bio-Rad, USA) je učinjena vizuelizacija. Pomoću ImageLab softvera (Bio-Rad, USA), je učinjena denzitometrijska analiza.

3.4.9 Histološka i morfometrijska analiza

Tkivo srca je je korišćeno za histološku i morfometrijsku analizu. Nakon što je tkivo srca adekvatno orijentisano, isečeno je poprečno, na rezove adekvatne debljine (3 mm). Postupkom imerzije, tkivo je fiksirano u 4% neutralno puferisanom formaldehidu, tokom najmanje 24 h. Nakon toga, rastućim koncentracijama alkohola su dehidratirani uzorci tkiva, prosvetljeni u ksilolu i potom kalupljeni aparatom za kalupljenje (Tissue Tech II Tissue Embedding Center), u paraplustu. Svaki kalup, pojedinačno je izravnat, te je isečen do vizuelizacije cele debljine zida miokarda. Mikrotomom (Leica Reinhart Austria i Leica SM 2000 R) su uzorci serijski isečeni na isečke, odgovarajućih dimenzija (5 μ m). Tako dobijeni isecci su potom bojani PTAH metodom. Navedena metoda omogućava bolju morfološku i morfometrijsku analizu promena na tkivu srca. Svi dobijeni uzorci su posmatrani na svetlosnom mikroskopu Olympus BX41 (Tokio, Japan) sa Olympus C5060-ADU

“wide zoom” kamerom. Za morfometrijsku analizu je korišćen kompjuterski program ImageJ (ImageJ 1,48v software, National Institutes of Health, Betesda, SAD).

3.5 Hemikalije i potrošni materijal

U eksperimentalnoj fazi istraživanja korišćene su sledeće supstance:

- isoproterenol hydrochloride (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany, u koncentraciji 85 mg/kg t.m.);
- 4'-hlorodiazepam (4'-CIDzp) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany, u koncentraciji 0,5 mg/kg t.m.);
- PK-11195 (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany, u koncentraciji 5 mg/kg t.m.);
- L-NAME hidrohlorid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany, u koncentraciji 50 mg/kg t.m.);
- acepromazin (NeurotranqR) (Alfasan International B.V., JA Woerden, The Netherlands, u koncentraciji 2,5 mg/kg t.m.);
- ketamin hydrochloride (Ketamidor 10% R) (Richter Pharma AG, Wels, Austria, u koncentraciji 0,01 ml 10% (100 mg/ml));
- primarno mišije monoklonsko anti-glutation-antitelo (Sigma-Aldrich, USA);
- sekundarno kozije anti-mišje-antitelo (Abcam, Cambridge, UK);
- potrošni laboratorijski materijal (Eppendorf, Hamburg, Germany).

3.6 Statistička analiza

Za statističku analizu kao i za izradu grafikona upotrebljen je program SPSS v.23.0. Uticaj vremena na promenu telesnih masa eksperimentalnih životinja kroz eksperimentalni protkol je statistički analiziran pomoću one-way ANOVA modela sa Tukey post hoc testom. Grafički prikaz i analiza promene telesnih masa tokom eksperimenta je prikazana pomoću programa GraphPad Prism v.9.0.0.

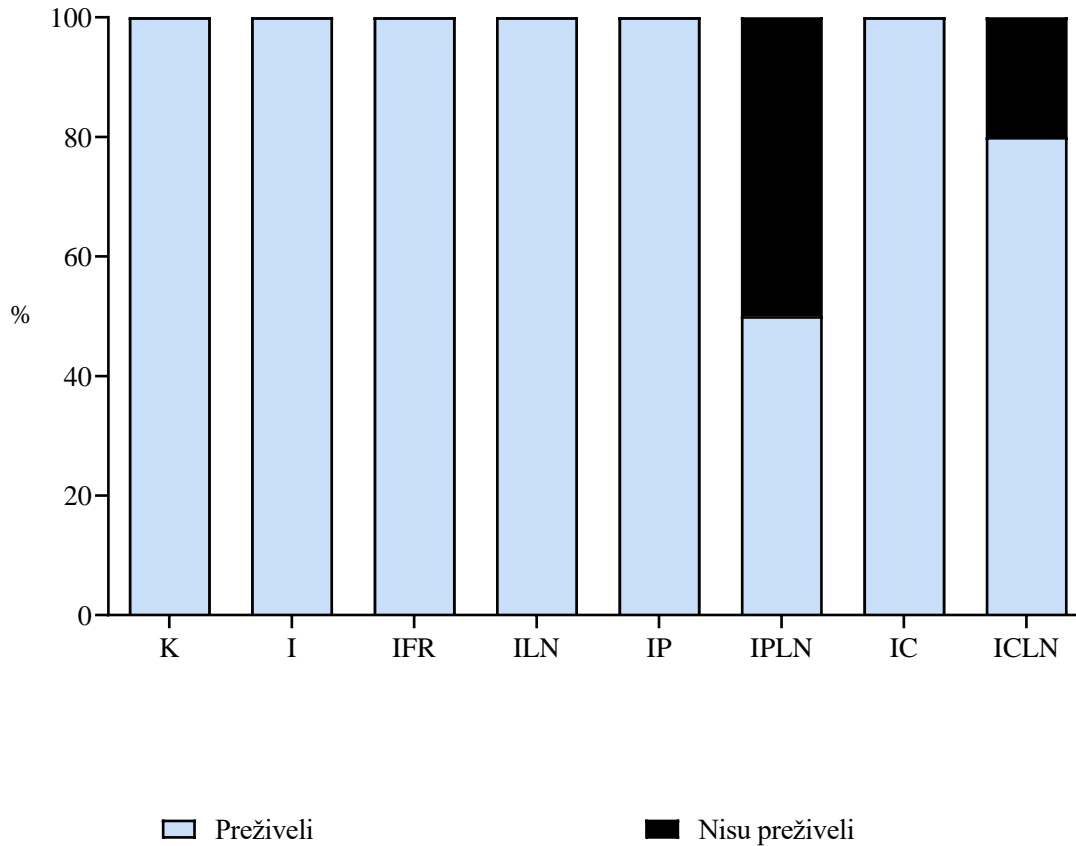
Poređenje prosečnih vrednosti parametarskih obeležja između grupa je rađeno pomoću analize varijanse (ANOVA) modela sa Tukey post hoc testom, a kao neparametarska varijanta testa korišćeni su *Kruskal-Wallis-ov* ili *Mann-Whitney-jev* test. Za testiranje jednakosti distribucije korišćen je Fisherov test.

Za sve testove vrednost $p < 0,05$ se smatrala statistički značajnom, a visoko statistički značajna bila je vrednost $p < 0,01$. U slučaju normalne raspodele podataka, numeričke vrednosti su prikazivane kao srednja vrednost \pm standardna devijacija. U slučaju odstupanja od normalne raspodele podataka numerička vrednost je prikazivana kao medijana (minimum – maksimum). Dobijeni rezultati su prikazani grafički ili tabelarno. Za grafički prikaz rezultata koji su imali normalnu raspodelu, korišćeni su stubičasti grafikoni, dok su za rezultate koji odstupaju od normalne raspodele, korišćeni *box-plot* grafikoni.

4. Rezultati

4.1 Mortalitet

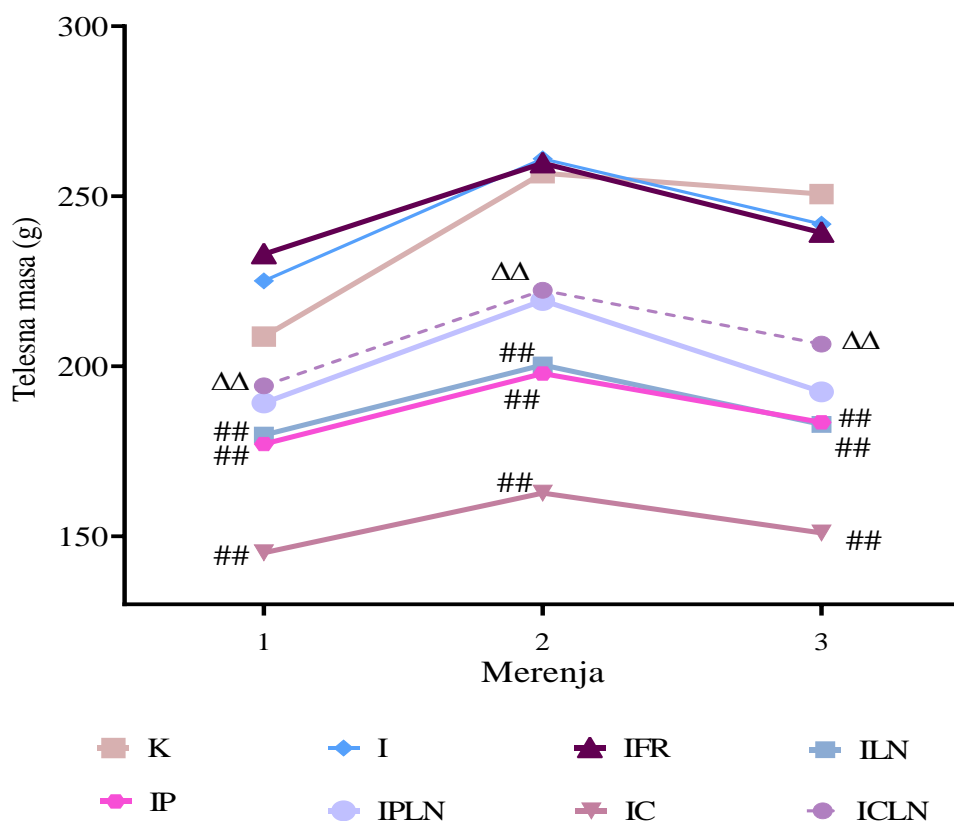
Na **Grafikonu 1** je prikazan stepen mortaliteta eksperimentalnih životinja tokom tretmana. Primećuje se da je 50% eksperimentalnih životinja nije preživelo tokom tretmana sa PK-11195 i L-NAME, u uslovima akutnog infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom. U grupi tretiranoj sa 4'-CIDzp i L-NAME, kod MI izazvanog izoprenalinom, 20% eksperimentalnih životinja nije preživelo.



Grafikon 1. Procenat pacova koji su preživeli na kraju eksperimentalnog perioda; K – f.r. 0,2 mL/2x/48 48 h s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.

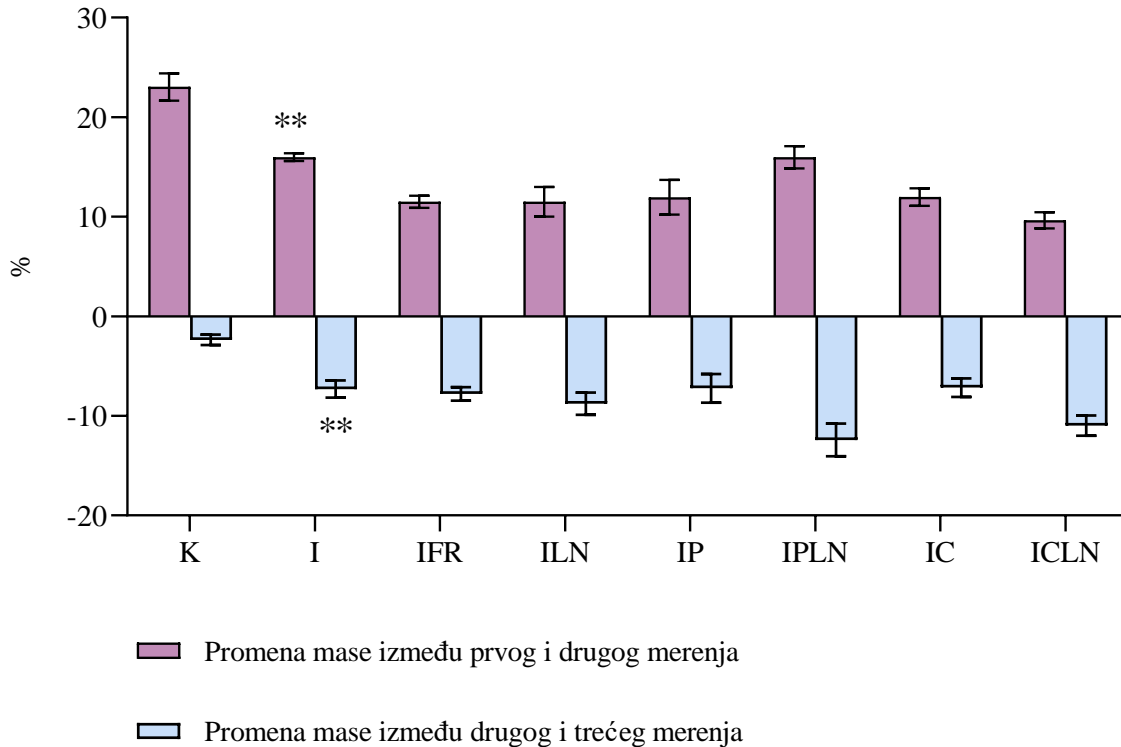
4.2 Promene telesne mase

Na **Grafikonu 2** je prikazana dinamika promene telesnih masa pacova po grupama. Modelom *One-Way ANOVA* ponovljenih merenja i *Tukey posthoc* testom za ispitivanje značajnosti promene u telesnim masama između grupa, ispitivani su u određenim vremenskim tačkama tokom eksperimentalnog protokola. Na početku eksperimenta, između testiranih grupa su postojale razlike u telesnoj masi. Statistički značajna razlika se uočava u grupama IC, ILN i IP u odnosu na grupu IFR, $p < 0,01$. Takođe, visoko značajna razlika se uočava u grupi ICLN u odnosu na grupu IC, $p < 0,01$. Na drugom merenju trećeg dana eksperimenta, uočava se sporo napredovanje telesne mase. Kao i na početku eksperimenta, telesna masa eksperimentalnih životinja je statistički značajno niža u grupama IC, IP i ILN u odnosu na grupu IFR, $p < 0,01$. Takođe, u grupi tretiranoj sa 4'-CIDzp i L-NAME u uslovima infarkta miokarda izazvanog ISO, telesna masa eksperimentalnih životinja je visoko statistički značajno viša u poređenju sa grupom IC, $p < 0,01$. Na kraju eksperimentalnog perioda, održavaju se razlike u merenju telesnih masa između grupa, sa istim stepenom značajnosti.



Grafikon 2. Promene telesne mase. Merenja su vršena: (1) na početku eksperimenta; (2) treći dan eksperimenta pre primene supstanci; (3) na kraju eksperimentalnog perioda; K – f.r. 0,2 mL/2x/48 h s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom, $\Delta\Delta$ - $p < 0,01$ u poređenju sa IC grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom

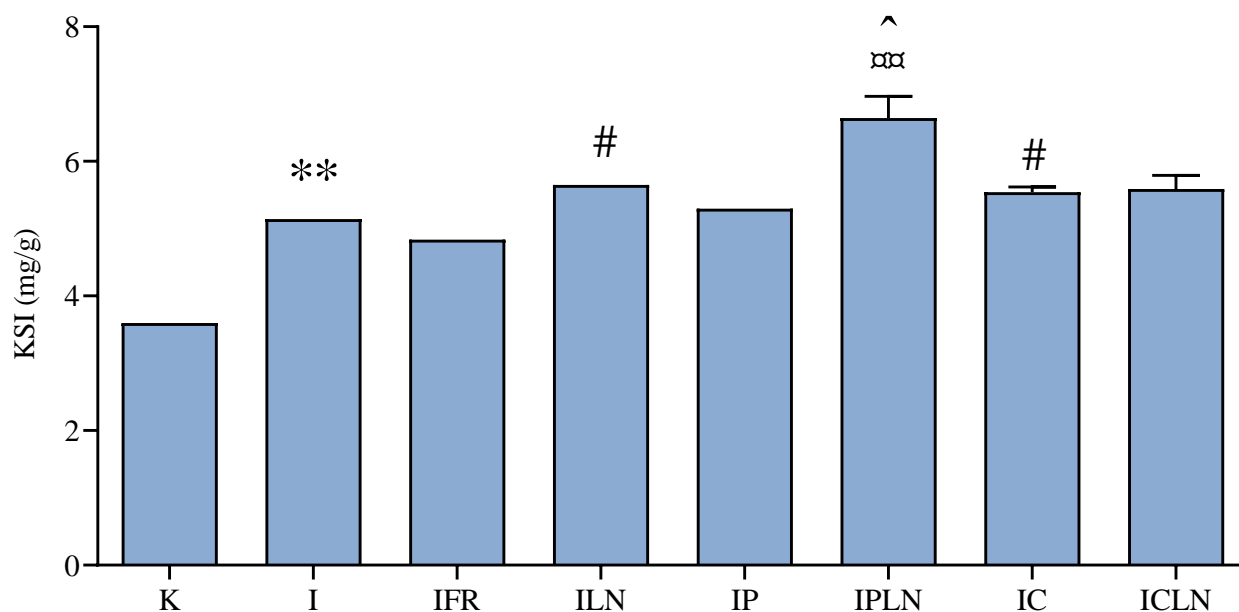
Na **Grafikonu 3** prikazana je promena telesne mase eksperimentalnih životinja u procentima, poređenjem između prvog i drugog merenja, kao i poređenjem odnosa između drugog i trećeg merenja. Primećuje se da je statistički značajna promena telesne mase eksperimentalne grupe tretirane samo sa izoprenalinom u odnosu na grupu K, $p < 0,01$, između prvog i drugog merenja, kao i statistički značajna razlika između drugog i trećeg merenja u grupi I u odnosu na grupu K, $p < 0,01$.



Grafikon 3. Promena telesne mase između drugog i prvog i trećeg i drugog merenja izražena u procentima; K – f.r. 0,2 mL/2x/48 h s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom

4.3 Kardiosomatski indeks i razlike između eksperimentalnih grupa životinja

Na **Grafikonu 4** predstavljene su vrednosti kardiosomatskog indeksa eksperimentalnih životinja. Nakon primene L-NAME i 4'-CIDzp, u uslovima akutnog infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, vrednosti KSI su statistički značajno više u grupama ILN i IC u odnosu na grupu IFR ($p < 0,05$). Takođe, vrednosti kardiosomatskog indeksa su visoko statistički više u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, u odnosu na vrednosti grupe K ($p < 0,01$). Primena PK-11195 i L-NAME, kod izoprenalinom indukovanoog MI, statistički je značajno povećala vrednosti KSI u poređenju sa grupama koje su odvojeno primale samo PK-11195 i L-NAME, u uslovima MI izazvanog ISO, $p < 0,05$.

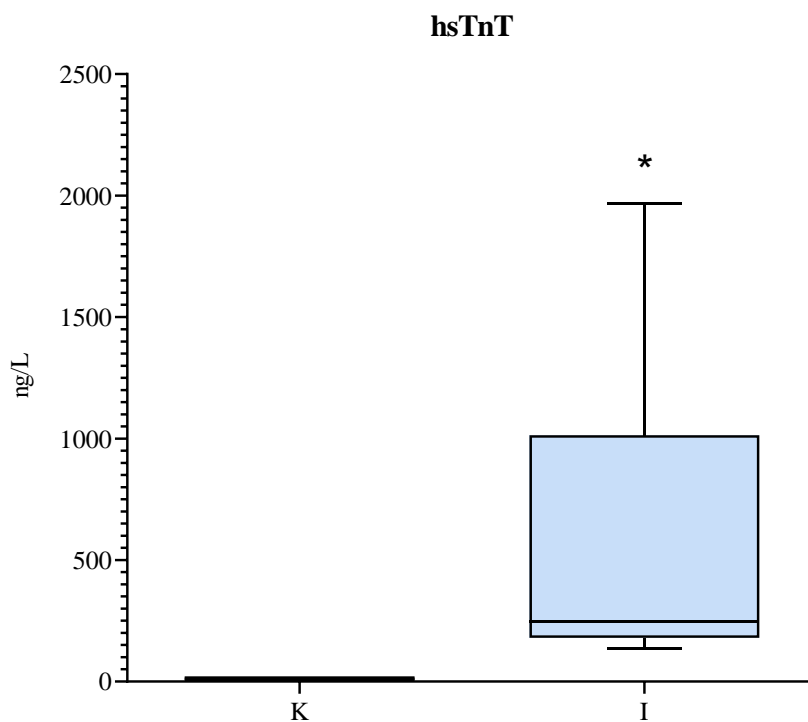


Grafikon 4. Kardiosomatski indeks (KSI) pacova na kraju eksperimentalnog perioda; K – f.r. 0,2 mL/2x/48 h s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom, ^- $p < 0,05$ u poređenju sa ILN grupom **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom, α - $p < 0,01$ u poređenju sa IP grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom

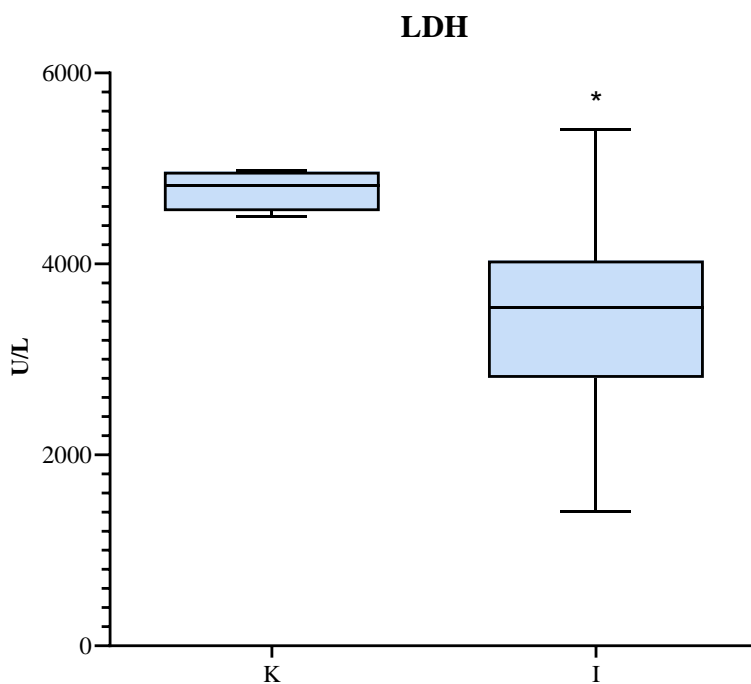
4.4 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina

4.4.1 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere ishemijske miokarda

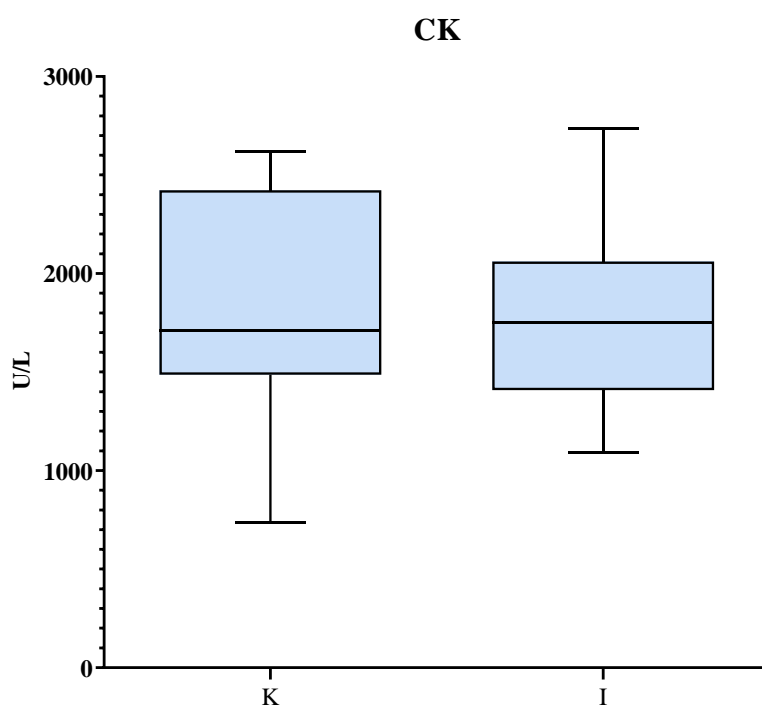
Na **Grafikonima 5–8** prikazani su markeri miokardnog oštećenja usled infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom. Primena izoprenalina je značajno povećala vrednosti hsTnT u grupi I (247,9 (136,9–1969,0) U/L) u odnosu na grupu K (12,0 (8,0–13,0) U/L), $p < 0,05$ (**Grafikon 5**). U grupi I (3540,5 (1409,0–5406,0) U/L) je primećena statistički značajno niža koncentracija LDH u odnosu na grupu K (4820,5 (4500,0–4978,0) U/L), $p < 0,05$ (**Grafikon 6**). Poređenjem izmerenih koncentracija CK, između grupa K (1713,0 (737,0–2621,0) U/L) i I (1751,0 (1091,0–2737,0) U/L), nisu dobijene značajne razlike, $p > 0,05$ (**Grafikon 7**). Međutim, u uslovima infarkta miokarda, primenom ISO, smanjena je koncentracija AST (128,7 (91,8–171,2) U/L) u odnosu na grupu K (170,0 (115,0–265,0) U/L), $p < 0,05$ (**Grafikon 8**).



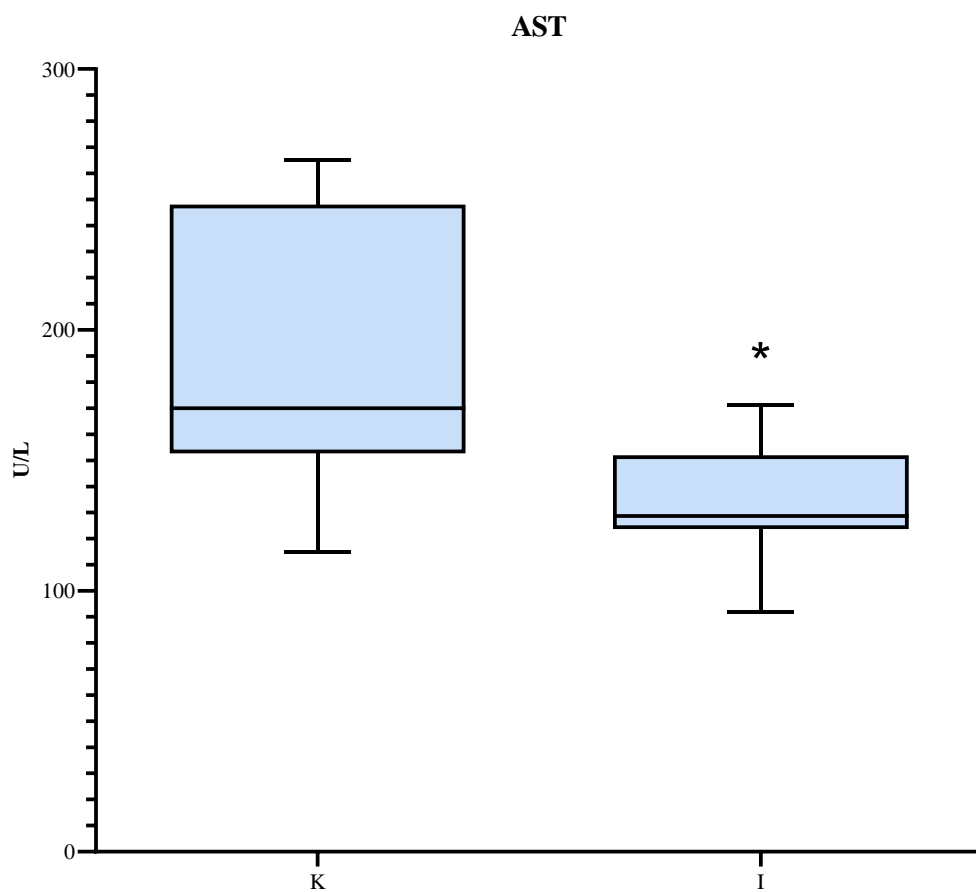
Grafikon 5. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju hsTnT u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* test



Grafikon 6. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju LDH u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *-p < 0,05 u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* testom



Grafikon 7. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju CK u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *-p < 0,05 u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* testom



Grafikon 8. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju AST u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *-p < 0,05 u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* testom

4.4.2 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na kardiovaskularne biomarkere u serumu/plazmi

U uslovima akutnog infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom (26,93 (20,4–30,8) $\mu\text{mol/mL}$), značajno više vrednosti homocisteina se primećuju u poređenju sa grupom K (11,8 (8,4–20,0) $\mu\text{mol/mL}$), $p < 0,01$ (**Tabela 4**). Takođe, primenom izoprenalina smanjena je koncentracija ukupnog holesterola (1,7 (1,5–2,0) mmol/L) u odnosu na grupu K (2,3 (2,0–2,7) mmol/L), $p < 0,01$, kao i koncentracija HDL-a u grupi I (1,0 (0,8–1,4) mmol/L) u odnosu na grupu K (1,6 (1,3–1,93) mmol/L), $p < 0,01$. U kontrolnoj grupi (0,86 (0,54–1,27) mmol/L) je viša koncentracija triglicerida u odnosu na grupu I (0,37 (0,31–0,58) mmol/L), $p < 0,01$. Koncentracija fibrinogena u grupi I (3,1 (2,1–3,7) g/L) je značajno viša u odnosu na grupu K (2,07 (1,6–2,39) g/L), $p < 0,01$. Nije primećena statistički značajna razlika u koncentraciji *von Willebrand*-og faktora između grupa tretiranih sa izoprenalinom ili fiziološkim rastvorom, $p > 0,05$.

Tabela 4. Efekti izoprenalina na kardiovaskularne biomarkere u serumu/plazmi

Biohemijski parametri	K	I
HCY ($\mu\text{mol/mL}$) ^s	11,8 (8,5–20,1)	26,93 (20,4–30,8) **
TH (mmol/L) ^s	2,3 (2,0–2,7)	1,7 (1,5–2,0) **
HDL (mmol/L) ^s	1,6 (1,3–1,9)	1,0 (0,8–1,4) **
TG (mmol/L) ^s	0,86 (0,54–1,27)	0,37 (0,31–0,58) **
FIB (g/L) ^p	2,07 (1,6–2,4)	3,1 (2,1–3,7) **
vWF (%) ^p	215,0 (50,0–225,0)	212,5 (133,3–233,2)

Hcy-homocistein, TH – ukupni holesterol, HDL – lipoprotein velike gustine, TG – trigliceridi, FIB – fibrinogen, vWF – *von Willebrand*-ov faktor, s – parametar meren u serumu, p – parametar meren u plazmi; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom, **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* testom

4.4.3 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu

Nije primećena značajna razlika u izmerenim koncentracijama uree, mokraćne kiseline i kreatinina između grupa K i I. Primena izoprenalina visoko značajno je smanjila nivo aktivnosti ALT (39,1 (35,6–52,2) U/L) u odnosu na kontrolnu grupu (77,5 (62,0–104,0) U/L), $p < 0,01$. Takođe, nivo aktivnosti ALP je visoko značajno niži u grupi I (167,0 (140,0–188,0) U/L) u odnosu na grupu K (299,0 (248,0–424,0) U/L), $p < 0,01$. Primena izoprenalina nije uticala na značajnu promenu aktivnosti alfa amilaze u odnosu na kontrolnu grupu, $p > 0,05$. U grupi I (48,1 (45,9–50,7) g/L) su visoko značajno niže ukupne koncentracije proteina u odnosu na grupu K (59,0 (57,0–64,0) g/L), $p < 0,01$. Takođe, visoko značajno niže koncentracije albumina su u grupi K (25,0 (25,0–30,0) g/L) u odnosu na grupu I (31,7 (30,3–34,7) g/L), $p < 0,01$.

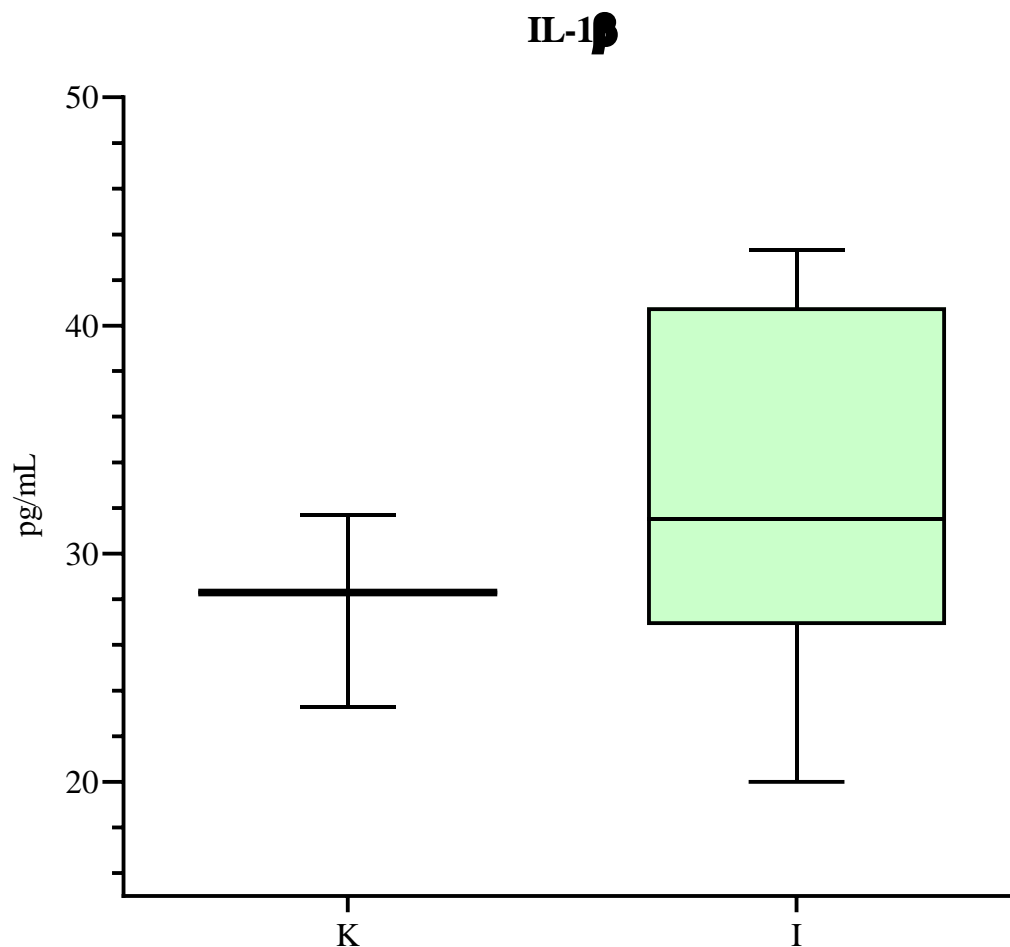
Tabela 5. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu

Biohemijski parametri	K	I
MK ($\mu\text{mol/L}$)	69,0 (57,0–86,0)	66,5 (49,0–76,0)
Urea (mmol/L)	10,25 (8,8–13,3)	10,0 (8,8–11,3)
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	28,5 (25,0–33,0)	27,5 (23,0–32,0)
ALT (U/L)	77,5 (62,0–104,0)	39,1 (35,6–52,2) **
ALP (U/L)	299,0 (248,0–424,0)	167,0 (140,0–188,0) **
α -AMY (U/L)	2418,0 (2013,0–3603,0)	1986,0 (1493,0–3032,0)
UP (g/L)	59,0 (57,0–64,0)	48,1 (45,9–50,7) **
ALB (g/L)	25,0 (25,0–30,0)	31,7 (30,3–34,7) **

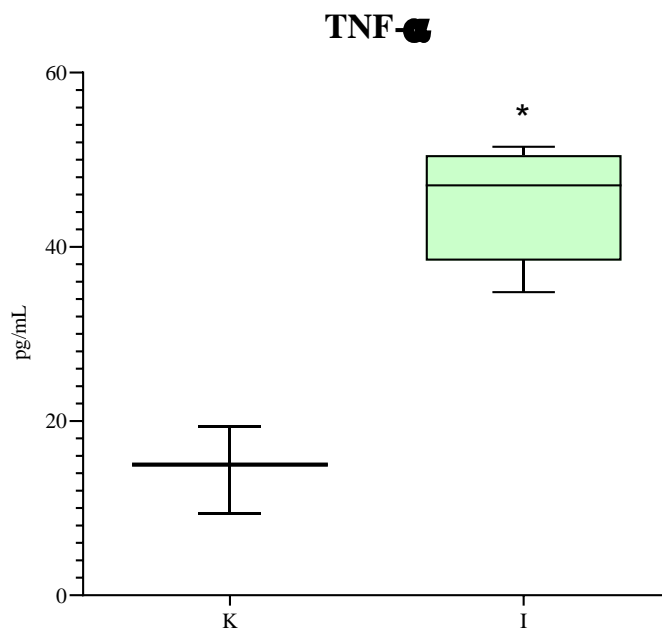
MK – mokraćna kiselina; ALT – alanin aminotransferaza; ALP – alkalna fosfataza, α -AMY – alfa amilaza, UP – ukupni proteini, ALB – albumini; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* test

4.4.4 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere inflamacije

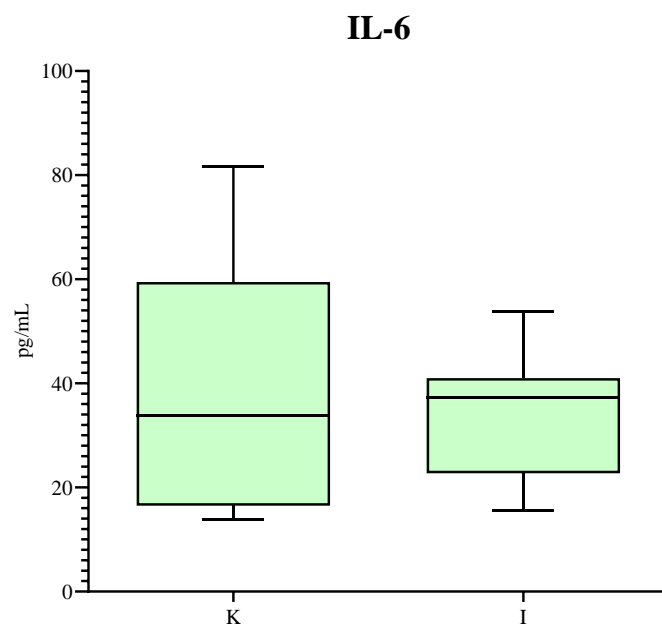
Primena izoprenalina nije uticala na značajnost razlike izmerenih koncentracija IL-1 β između grupe I (31,6 (20,0–56,7) pg/mL) i grupe K (28,3 (23,3–31,7) pg/mL), $p > 0,05$ (**Grafikon 9**). Značajno poviše koncentracije TNF- α su pokazane u grupi I (47,0 (19,8–51,5) pg/mL) naspram grupe K (15,0 (9,4–19,4) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 10**). Izmerene vrednosti IL-6 u grupama I (37,3 (15,6–53,8) pg/mL) i grupama K (33,8 (13,9–81,6) pg/mL), nisu pokazale statistički značajne razlike, $p > 0,05$ (**Grafikon 11**). U kontrolnoj grupi (6327,0 (6317,0–6857,0) pg/mL) su više vrednosti IL-10 u poređenju sa grupom I (101,2 (30,0–240,0) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 12**).



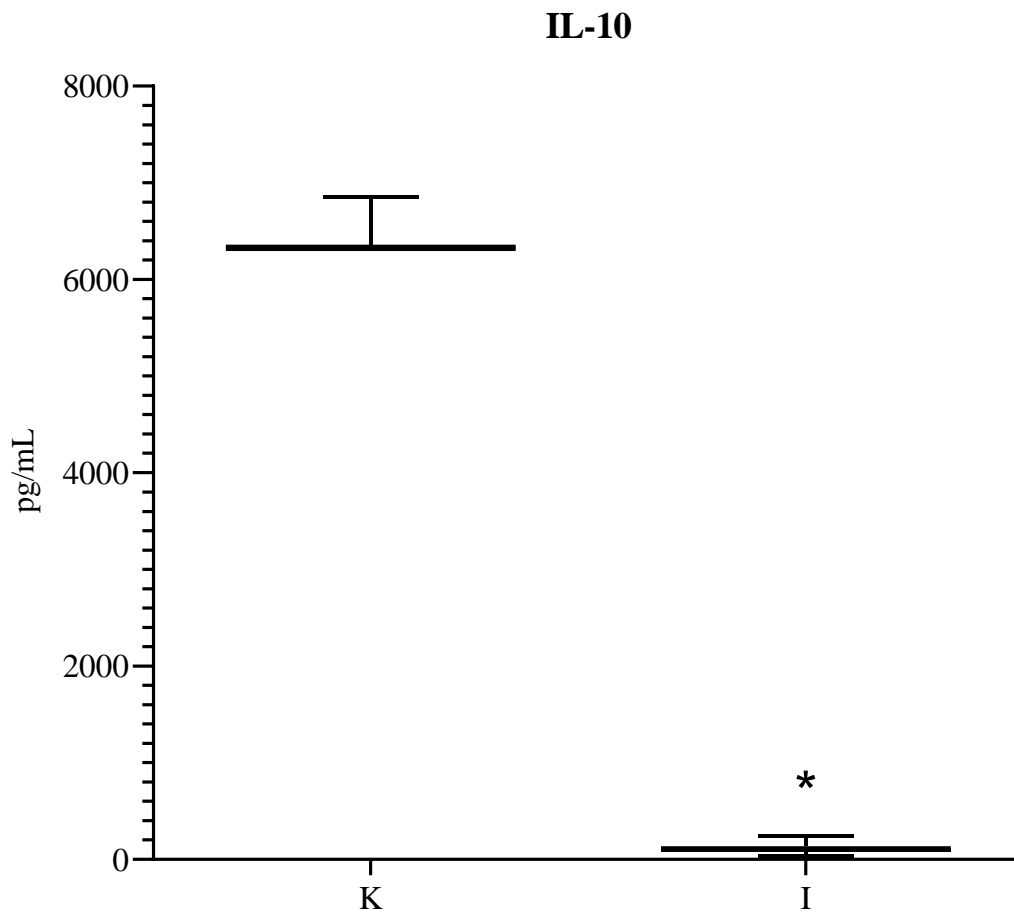
Grafikon 9. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju IL-1 β u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p > 0,05$ – *Mann-Whitney* test



Grafikon 10. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju TNF- α u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* test



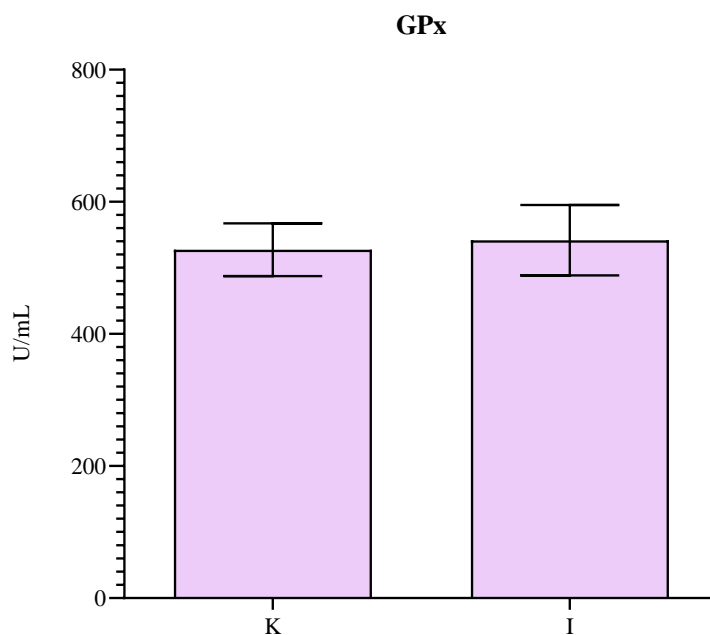
Grafikon 11. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju IL-6 u serumu K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p > 0,05$ – *Mann-Whitney* test



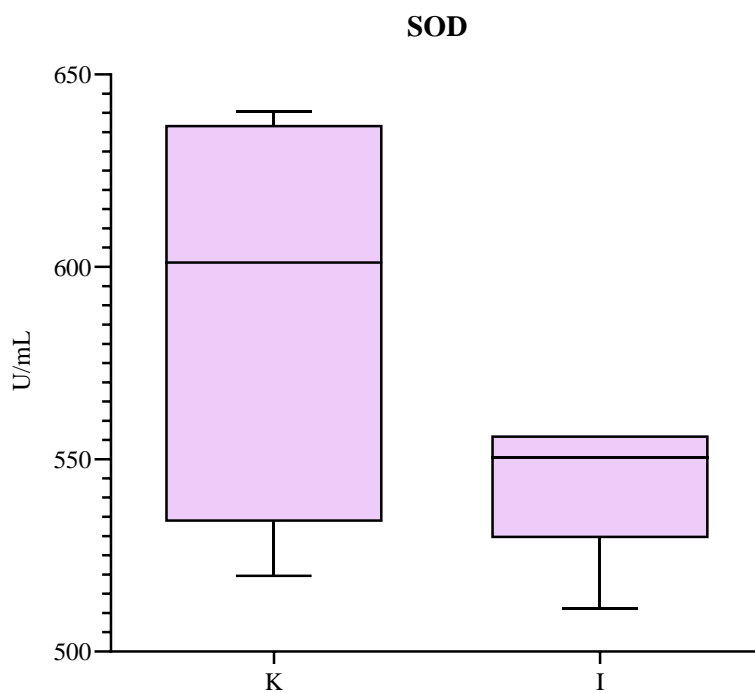
Grafikon 12. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na koncentraciju IL-10 u serumu; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom – *Mann-Whitney* test

4.4.5 Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na markere oksidativnog stresa

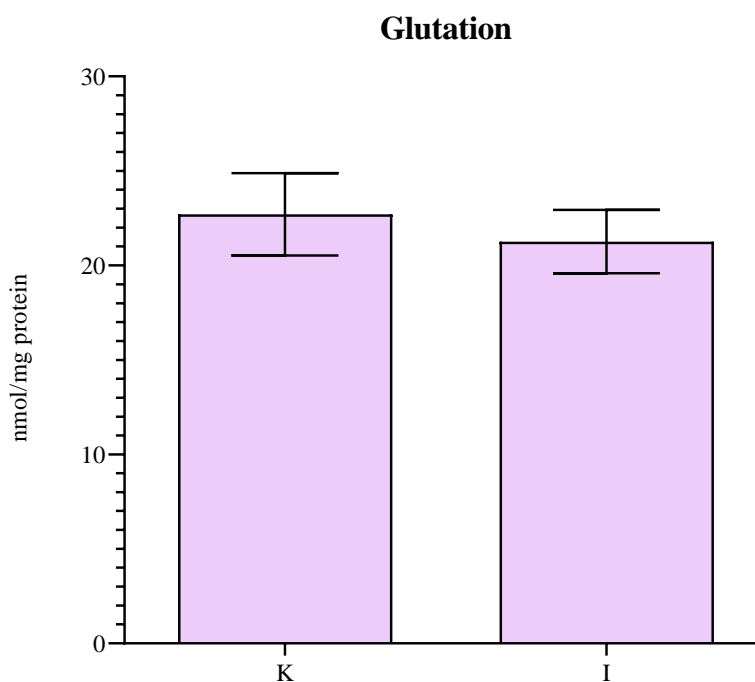
Na **Grafikonima 13–15** prikazan je uticaj izoprenalina na markere oksidativnog stresa. Poređenjem grupa tretiranih izoprenalinom i grupa tretiranih fiziološkim rastvorom, nisu primećene statistički značajne razlike u vrednostima GPx, SOD i glutationa, $p > 0,05$.



Grafikon 13. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na aktivnost GPx u tkivu srca; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; $p > 0,05$ – *Studentov T test*



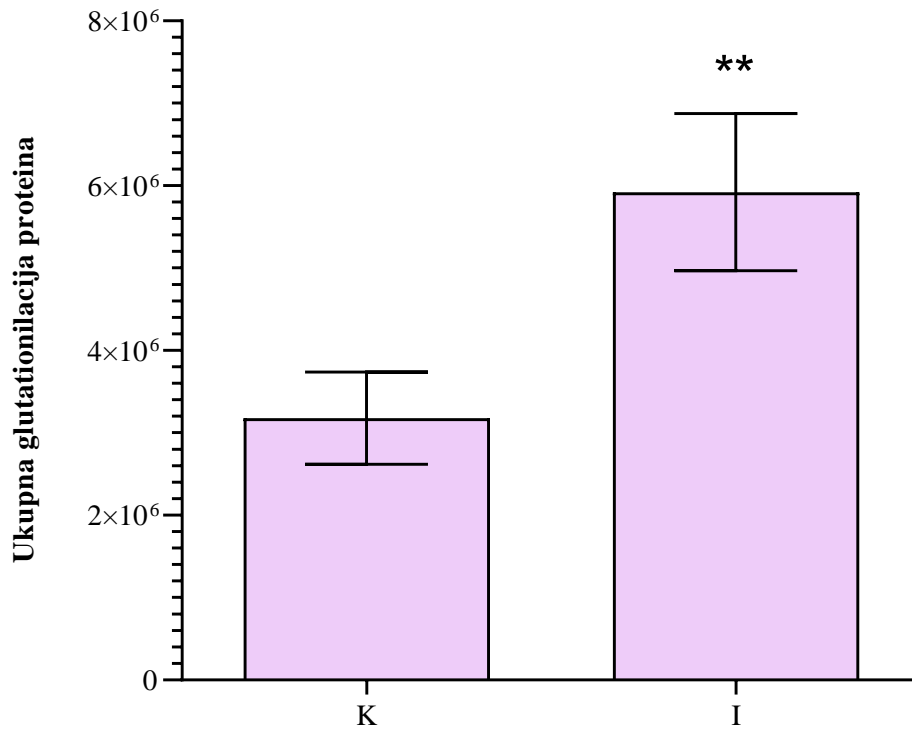
Grafikon 14. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na aktivnost SOD u tkivu srca; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; $p > 0,05$ – *Mann-Whitney* testom



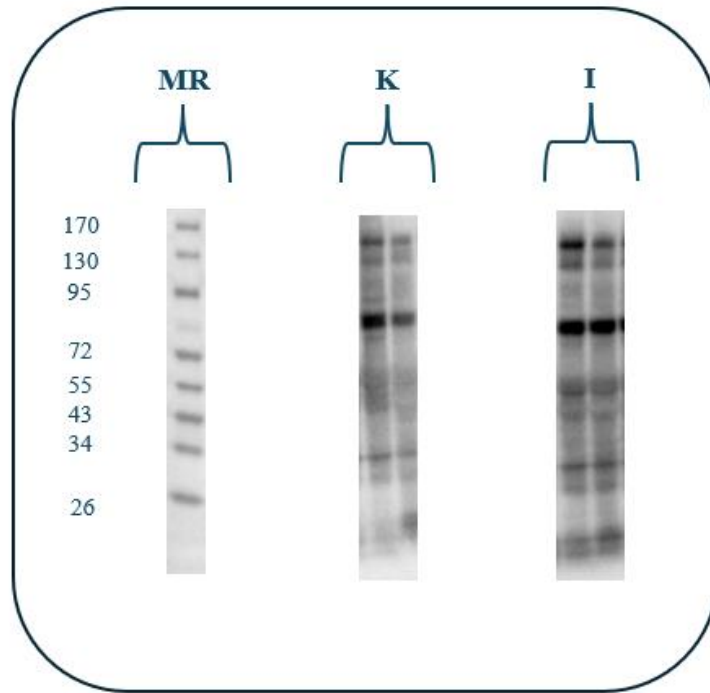
Grafikon 15. Efekti indukcije infarkta miokarda primenom izoprenalina na vrednost glutaciona u tkivu srca; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; $p > 0,05$ – *Studentov T* test

4.4.6 Determinacija ukupne S-glutationilacije u kontrolnoj grupi i grupi tretiranoj izoprenalinom

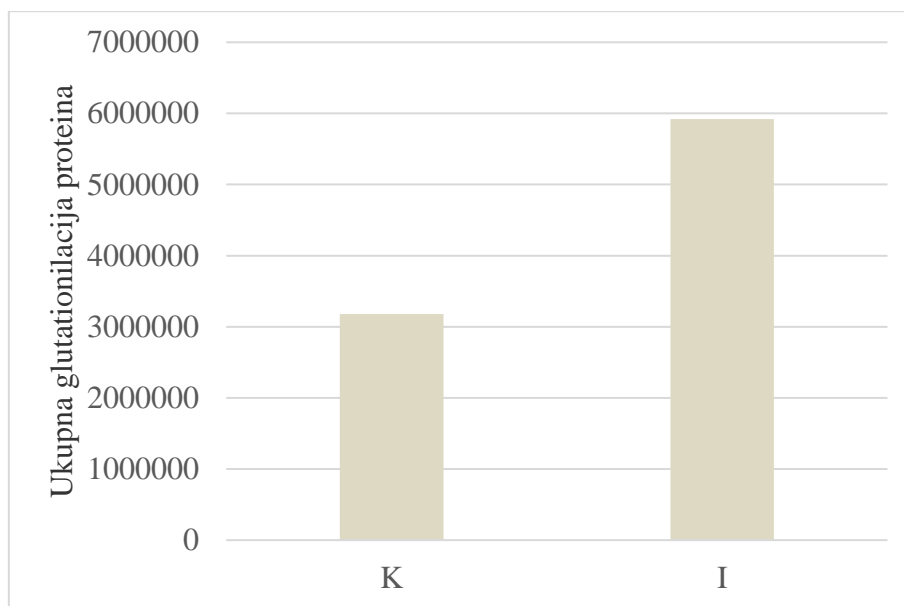
Pomoću Western blot-a određen je nivo glutacionilacije ukupnih proteina. Za ispitivanje ukupne glutacionilacije proteina korišćeno je monoklonsko glutacion-antitelo. **Slika 8** prikazuje reakciju antitela i glutaciona pomoću traka u grupama K i I, dok **slika 9** pokazuje analizu denzitometrije dobijenih *blot*-ova pomoću ImageLab softvera. Visoko značajno je povišen nivo glutacionilacije proteina usled primene izoprenalina ($5921141,8 \pm 952398,6$), dobijen denzitometrijskom analizom, u odnosu na grupu K ($3178634,4 \pm 560575,7$), $p < 0,01$ (**Grafikon 16**).



Grafikon 16. Ukupna glutacionilacija proteina u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom – Studentov *T* test



Slika 8. Nivoi ukupne glutationilacije proteina *Western blot*-om; MR – marker molekularne mase (kDa);
K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.



Slika 9. Analiza denzitometrije dobijenih *blot*-ova-ImageLab softver (Bio-Rad, SAD)
K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.

4.4.7 Histološka analiza uzoraka tkiva srca u kontrolnoj grupi i grupi tretiranoj izoprenalinom

Primećeno je da u grupi sa akutnim infarktomiokarda izazvanog izoprenalinom u 80% slučajeva uzorak tkiva srca ima 80% promena sa gradusom 3 (teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom), i 20% promena gradusa 2 (umereno ekstenzivna miofibrilarna degeneracija i / ili difuzni inflamatorni proces bez promena koje ukazuju na ishemiju) u poređenju sa grupom koja je primala fiziološki rastvor, gde je u 100% slučajeva zabeležen gradus 0 (nema promena), sa statističkom vrednošću $p < 0,05$.

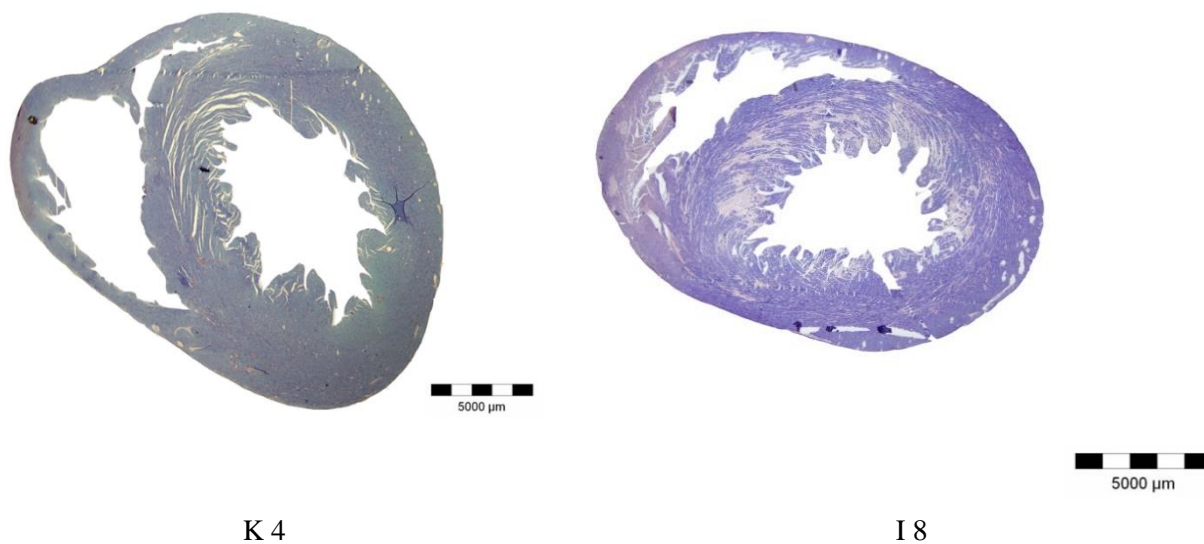
Tabela 6. Histopatološki stepen oštećenja miokarda kod pacova tokom indukcije infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom.

	Gradus 0	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	Σ
K	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)
I*	0 (0 %)	0 (0%)	1 (20%)	4 (80 %)	5 (100%)
Σ	4 (44,4%)	0 (0%)	1 (11,1%)	4 (44,4%)	9 (100%)

K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; *Fišerov* test: *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom gradus 0 – nema promena; gradus 1 – blago fokalno oštećenje miocita ili mala multifokalna degeneracija sa blagim stepenom zapaljenskog procesa; gradus 2 – umereno ekstenzivna miofibrilarna degeneracija i / ili difuzni inflamatorni proces; gradus 3 – teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom.

4. Rezultati

Na **Slici 10** prikazani su poprečni preseki tkiva srca pacova, uz prikaz leve i desne komore kontrolne grupe i grupe tretirane izoprenalinom. U primeru iz kontrolne grupe ne vidi se oštećenje miokarda, za razliku od grupe I, gde se primećuje difuzni transmuralni infarkt miokarda, kako u levoj tako i u desnoj komori, tačnije teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom.

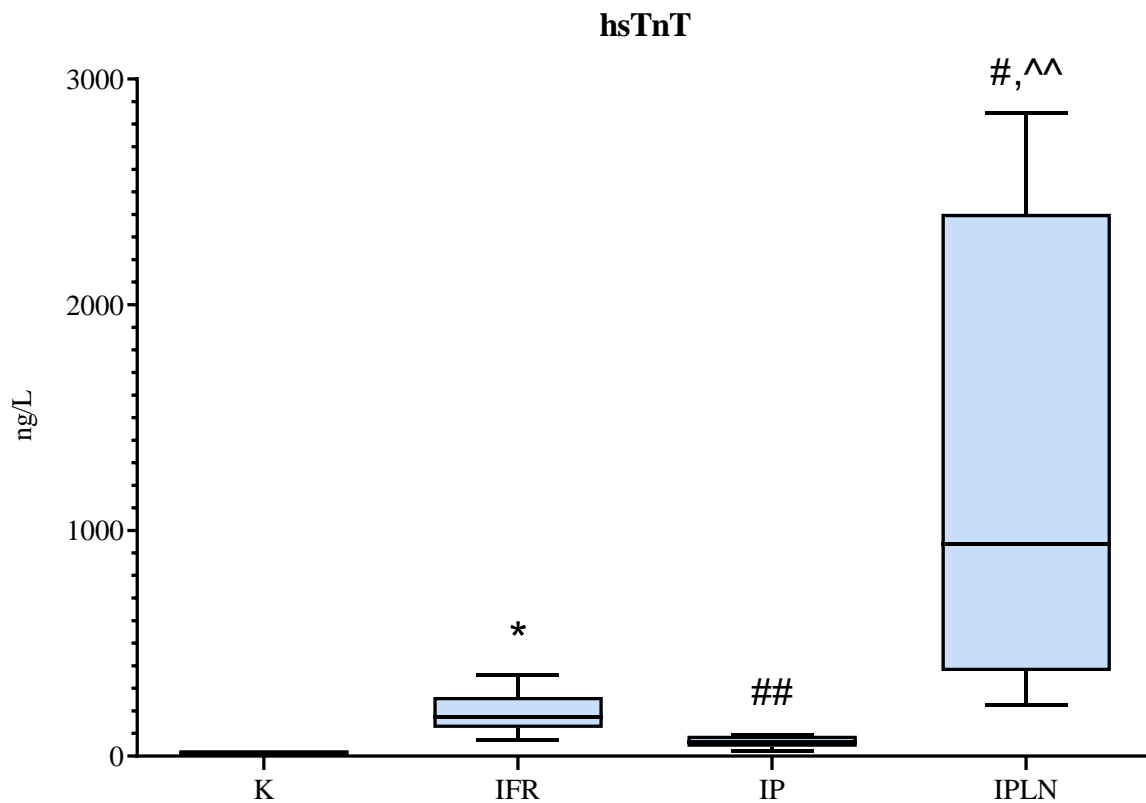


Slika 10. Reprezentativni primeri poprečnog preseka srca pacova, uz prikaz leve i desne komore navedenih eksperimentalnih grupa (PTAH bojenje, uvećanje 12,5 puta); K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.

4.5 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME

4.5.1 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere ishemije miokarda u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

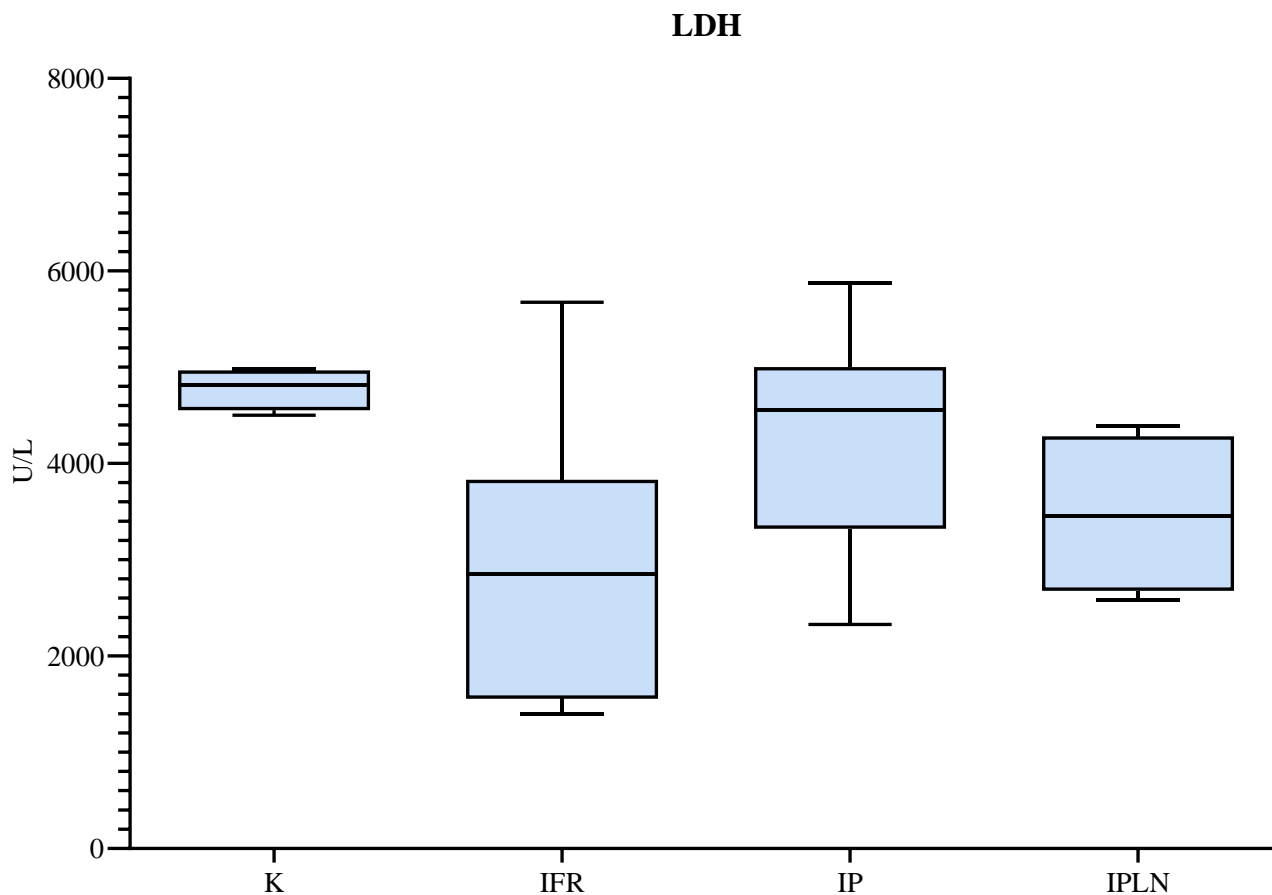
U modelu infarkta miokarda indukovano izoprenalinom, koaplikacija sa fiziološkim rastvorom je značajno povećala koncentraciju hsTnT u odnosu na grupu K (173,4 (70,4–358,5) ng/L naspram 12,0 (8,0–13,0) ng/L), $p < 0,05$. Intraperitonealna aplikacija PK-11195 sa izoprenalinom indukovanim IM je veoma smanjila koncentracije hsTnT u poređenju sa IFR grupom (61,5 (25,0–95,0) ng/L naspram 173,4 (70,4–358,5) ng/L) ($p < 0,01$, **Grafikon 17**). Merenjem koncentracije hsTnT u serumu uočava se visoko značajno povećanje u grupi IPLN (942,0 (228,0–2850,0) ng/L) naspram grupe IP (61,5 (25,0–95,0) ng/L) ($p < 0,01$, **Grafikon 17**). Isto tako, povećana koncentracija hsTnT u serumu je primećena u grupi IPLN (942,0 (228,0–2850,0) ng/L) naspram grupe IFR (173,4 (70,4–358,5) ng/L) ($p < 0,05$, **Grafikon 17**).



Grafikon 17. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju hs-TnT u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom; ^^- $p < 0,01$ u poređenju sa IP grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

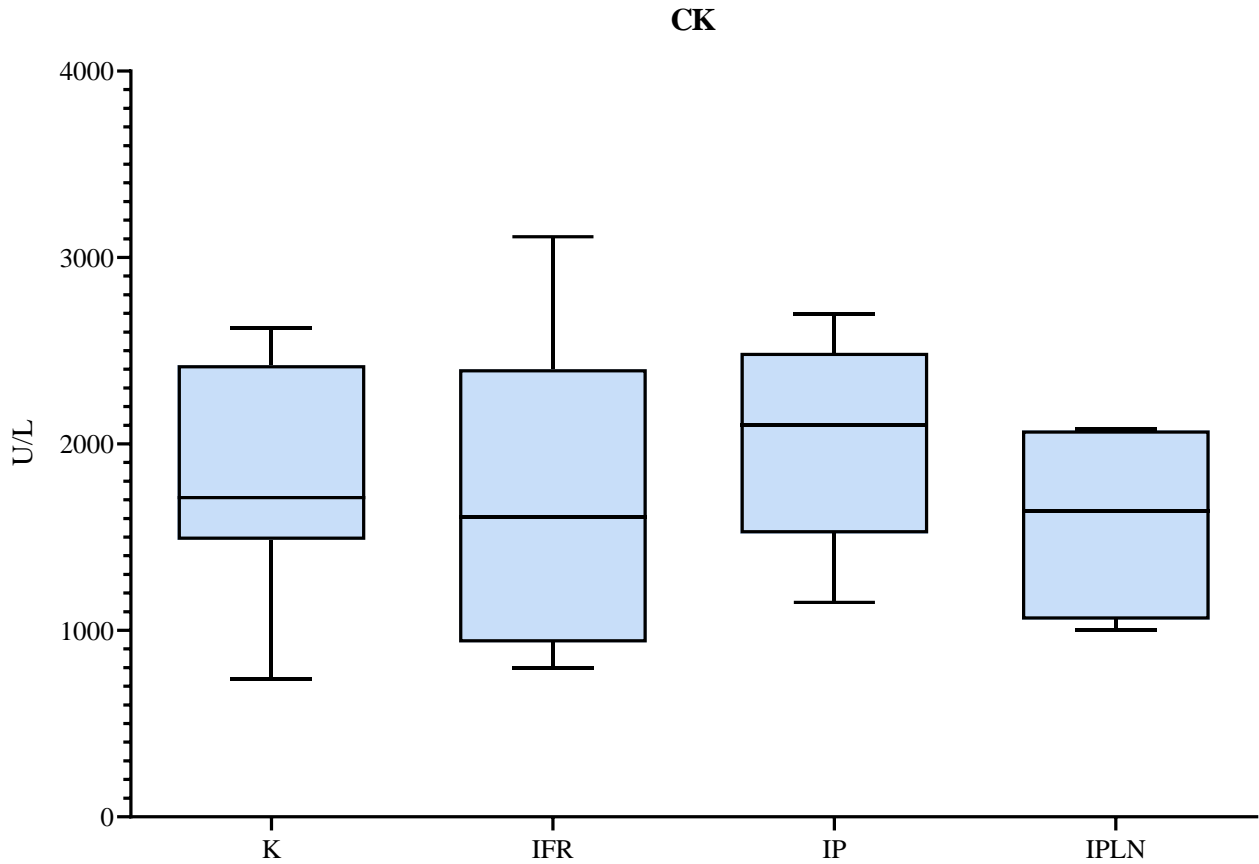
4. Rezultati

Razlike između grupa IFR (2855,0 (1399,0–5675,0) U/L), IP (4556,5 (2327,0–5879,0) U/L) i IPLN (3453,0 (2585,0–4390,0) U/L) nisu postojale pri poređenju izmerenih nivoa aktivnosti LDH u serumu (**Grafikon 18**). Takođe, statistički značajne razlike nisu postojale ni između IFR (2855,0 (1399,0–5675,0) U/L) i K grupe (4820,5 (4500,0–4978,0) U/L), $p > 0,05$.



Grafikon 18. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na aktivnost laktat dehidrogenaze (LDH) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; $p > 0,05$ – *Kruskal-Wallis* test

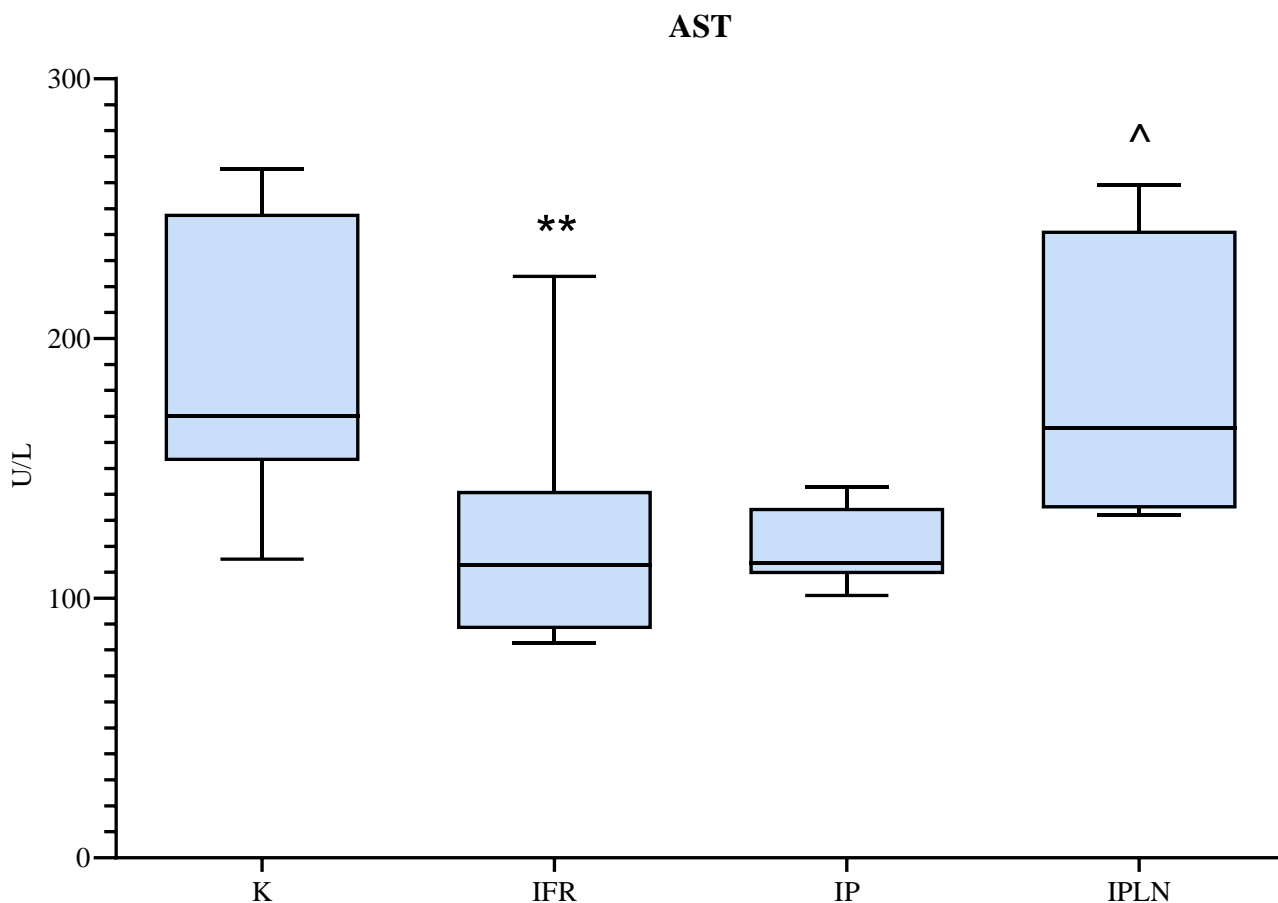
Pri poređenju izmerenih vrednosti aktivnosti CK u serumu, nisu postojale statistički značajne razlike između grupa IFR (1608,0 (801,0–3111,0) U/L), IP (2100,5 (1151,0–2695,0) U/L) i IPLN (1638,5 (1004,0–2078,0) U/L). Isto tako, statistički značajna razlika nije postignuta ni između grupa IP (2100,5 (1151,0–2695,0) U/L) i IPLN (1638,5 (1004,0–2078,0) U/L) u izmerenim vrednostima aktivnosti CK u serumu (**Grafikon 19**).



Grafikon 19. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na aktivnost kreatin kinaze (CK) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; $p > 0,05$ – *Kruskal-Wallis* test

4. Rezultati

Pokazane su statistički značajno više izmerene vrednosti aktivnosti AST u serumu pacova u grupi IPLN (165,0 (132,0–259,0) U/L) u poređenju sa grupama IP (113,5 (101,0–143,0) U/L). Takođe, koaplifikacija izoprenalina i fiziološkog rastvora, povećala je izmerene vrednosti aktivnosti AST u grupi IFR (112,6 (82,8–223,8) U/L) u odnosu na grupu K (170,0 (115,00–265,0) U/L), $p < 0,05$ (**Grafikon 20**).



Grafikon 20. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplifikacije PK-11195 i L-NAME na aktivnost aspartat aminotransferaze (AST) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom; ^- $p < 0,05$ u poređenju sa IP grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.5.2 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na kardiovaskularne biomarkere u serumu i plazmi u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

U **Tabeli 7** predstavljene su vrednosti kardiovaskularnih biomarkera u serumu i plazmi eksperimentalnih životinja. Koncentracija homocisteina u serumu je bila blago povišena u grupi IFR u odnosu na K grupu (13,30 (12,70–14,85) $\mu\text{mol/mL}$ naspram 11,8 (8,5–20,1) $\mu\text{mol/mL}$), ali bez statističke značajnosti, dok je koncentracija homocisteina bila statistički visoko značajno snižena u IFR grupi u poređenju sa IP i IPLN grupom (13,30 (12,70–14,85) $\mu\text{mol/mL}$ naspram 26,99 (22,30–42,30) $\mu\text{mol/mL}$; 13,30 (12,70–14,85) $\mu\text{mol/mL}$ naspram 33,39 (17,80–41,60) $\mu\text{mol/mL}$), $p < 0,01$.

Koncentracija ukupnog holesterola je bila statistički visoko značajno niža u grupi IFR u odnosu na K (1,69 (1,4–2,1) mmol/L naspram 2,32 (2,0–2,7) mmol/L), $p < 0,01$. Koncentracija ukupnog holesterola u grupama IP (2,11 (1,9–2,6) mmol/L, $p < 0,01$) i IPLN (2,29 (1,9–2,5) mmol/L, $p < 0,05$) je bila statistički značajno viša u odnosu na grupu IFR (1,69 (1,4–2,1) mmol/L). Koncentracija HDL holesterola je bila statistički visoko značajno viša u K grupi u odnosu na IFR grupu (1,6 (1,3–1,9) mmol/L naspram 1,0 (0,8–1,4) mmol/L), $p < 0,01$. U IP i IPLN grupi koncentracija HDL holesterola je bila statistički visoko značajno niža u odnosu na IFR grupu (0,7 (0,6–0,7) mmol/L naspram 1,0 (0,8–1,4) mmol/L; 0,6 (0,6–0,6) mmol/L naspram 1,0 (0,8–1,4) mmol/L), $p < 0,01$. Koncentracija HDL holesterola je bila niža u IPLN grupi (0,6 (0,6–0,6) mmol/L) u poređenju sa IP grupom (0,7 (0,6–0,7) mmol/L), $p < 0,05$. Koncentracija triglicerida je bila statistički visoko značajno viša u K grupi (0,87 (0,5–1,3) mmol/L) u poređenju sa IFR grupom (0,41 (0,3–0,6) mmol/L), $p < 0,01$. Koncentracija fibrinogena je bila statistički značajno viša u grupi IP (2,10 (1,8–3,1) g/L) i IPLN (3,05 (2,4–3,7) g/L) u poređenju sa grupom IFR (1,95 (1,80–2,5) g/L), $p < 0,05$.

Tabela 7. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda na kardiovaskularne biomarkere u serumu/plazmi

Biohemijski parametri	K	IFR	IP	IPLN
Hcy ($\mu\text{mol/mL}$) ^s	11,8 (8,5–20,1)	13,30 (10,3–16,1)	26,99 (22,30–42,30) ##	33,39 (17,80–41,60) ##
TH (mmol/L) ^s	2,32 (2,0–2,7)	1,69 (1,4–2,1) **	2,11 (1,9–2,6) ##	2,29 (1,9–2,5) #
HDL (mmol/L) ^s	1,6 (1,3–1,9)	1,0 (0,8–1,4) **	0,7 (0,6–0,7) ##	0,6 (0,6–0,6) ##, ^
TG (mmol/L) ^s	0,86 (0,5–1,3)	0,41 (0,3–0,6) **	0,44 (0,43–0,6)	0,46 (0,3–0,9)
FIB (g/L) ^p	2,07 (1,6–2,4)	1,95 (1,80–2,5)	2,10 (1,8–3,1) #	3,05 (2,4–3,7) #
vWF (%) ^p	215,0 (50,0–225,0)	214,1 (136,1–259,6)	211,8 (59,7–268,1)	242,4 (232,2–270,3)

Hcy – homocistein, TH – ukupni holesterol, HDL – lipoprotein velike gustine, TG – trigliceridi, FIB – fibrinogen, vWF – von Willebrand-ov faktor, s – parametar meren u serumu, p – parametar meren u plazmi; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa K grupom; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom; ^- $p < 0,05$ u poređenju sa IP grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.5.3 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

U **Tabeli 8** predstavljene su vrednosti hepato-renalno-pankreatičnih biomarkera u serumu eksperimentalnih životinja. Izmerena koncentracija uree je bila statistički visoko značajno niža u grupi IP (6,9 (5,5–9,9) mmol/L) u poređenju sa grupom IFR (10,4 (9,1–11,9) mmol/L), $p < 0,01$. Takođe, koncentracija uree je statistički značajno viša u grupi IPLN (8,6 (7,9–11,6) mmol/L) u odnosu na grupu IP (6,9 (5,5–9,9) mmol/L), $p < 0,05$. Izmerene koncentracije kreatinina su bile statistički značajno više u IFR grupi (33,0 (26,0–43,0) $\mu\text{mol/L}$) u poređenju sa K grupom (28,5 (25,0–33,0) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,05$. Takođe, izmerene koncentracije kreatinina su bile statistički značajno više u grupi IPLN (44,5 (37,0–48,0) $\mu\text{mol/L}$) u poređenju sa grupama IP (34,0 (30,0–38,0) $\mu\text{mol/L}$) i IFR (33,0 (26,0–43,0) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,05$. Koaplikacija PK-11195 i L-NAME, povećala je izmerene vrednosti mokraćne kiseline u grupi IPLN (80,0 (80,0–100,0) $\mu\text{mol/L}$) u odnosu na grupu IP (70,0 (60,0–80,0) $\mu\text{mol/L}$) i grupu IFR (72,5 (50,0–93,0) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,05$.

Izmerene vrednosti ALT u serumu su statistički visoko značajno niže u grupi IFR (49,3 (30,2–66,8) U/L) u poređenju sa K grupom (77,5 (62,0–104,0) U/L), $p < 0,01$. U grupi IFR (166,0 (139,0–192,0) U/L) su izmerene vrednosti koncentracije ALP statistički visoko značajno niže u odnosu na K grupu (299,0 (248,0–424,0) U/L), $p < 0,01$. Takođe, izmerene koncentracije ALP u serumu pacova su bile statistički visoko značajno više u grupama IP (282,0 (169,0–418,0) U/L) i IPLN (225,0 (213,0–276,0) U/L), u poređenju sa grupom IFR (166,0 (139,0–192,0), $p < 0,01$. U serumu je koncentracija α -AMY statistički značajno niža u grupi IP (1321,5 (742,0–2632,0) U/L) u poređenju sa grupom IFR (2396,5 (1576,0–2997,0) U/L), $p < 0,05$; dok su izmerene koncentracije α -AMY statistički visoko značajno niže u IPLN (1048,5 (816,0–1317,0) U/L) u odnosu na grupu IFR (2396,5 (1576,0–2997,0) U/L), $p < 0,01$.

Izmerene ukupne koncentracije proteina su bile statistički visoko značajno niže u grupi IFR (48,5 (45,4–57,5) g/L) u odnosu na K grupu (59,0 (57,0–64,0) g/L), $p < 0,01$. Takođe izmerene ukupne koncentracije proteina su bile statistički značajno niže u grupi IP (47,0 (42,0–48,0) g/L) u odnosu na grupu IFR (48,5 (45,4–57,5) g/L), $p < 0,05$. Izmerene vrednosti ukupnih proteina u grupi IPLN (49,5 (48,0–51,0) g/L) su bile značajno više u odnosu na grupu IP (47,0 (42,0–48,0) g/L), $p < 0,05$. U grupi K (25,0 (25,0–30,0) g/L) su izmerene statistički visoko značajno niže vrednosti albumina u odnosu na grupu IFR (31,4 (30,2–37,5) g/L), $p < 0,01$. U grupama IP (21,5 (20,0–24,0) g/L) i IPLN (22,5 (20,0–24,0) g/L) su izmerene koncentracije albumina u serumu bile statistički visoko značajno niže u poređenju sa grupom IFR (31,4 (30,2–37,5) g/L), $p < 0,01$.

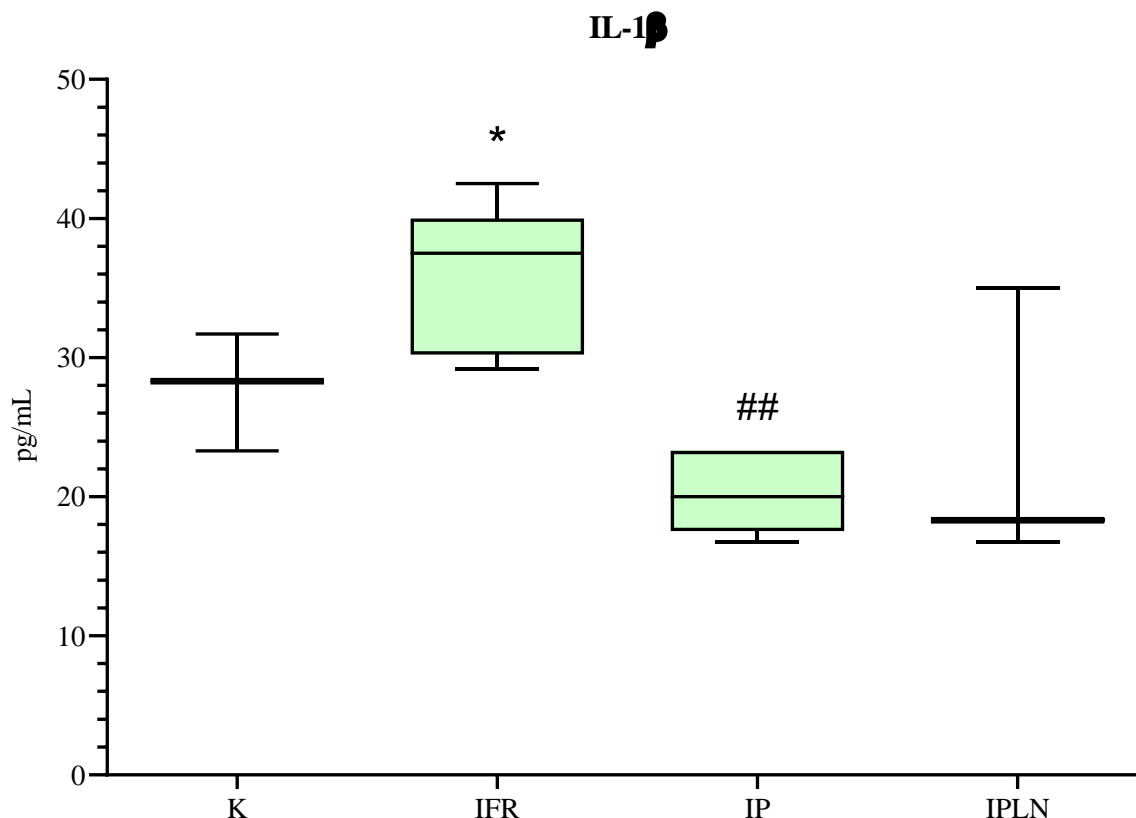
Tabela 8. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na hepatorenalno-pankreatične biomarkere u serumu u ISO indukovanom MI

Biohemijski parametri	K	IFR	IP	IPLN
MK (μmol/L)	69,0 (57,0–86,0)	72,5 (50,0–93,0)	70,0 (60,0–80,0)	80,0 (80,0–100,0) #, ^
Urea (mmol/L)	10,2 (8,8–13,3)	10,4 (9,1–11,9)	6,9 (5,5–9,9) ##	8,6 (7,9–11,6) ^
Kreatinin (μmol/L)	28,5 (25,0–33,0)	33,0 (26,0–43,0) *	34,0 (30,0–38,0)	44,5 (37,0–48,0) #, ^
ALT (U/L)	77,5 (62,0–104,0)	49,3 (30,2–66,8) **	57,0 (48,0–69,0)	65,5 (53,0–149,0)
ALP (U/L)	299,0 (248,0–424,0)	166,0 (139,0–192,0) **	282,0 (169,0–418,0) ##	225,0 (213,0–276,0) ##
α-AMY (U/L)	2418,0 (2013,0–3603,0)	2396,5 (1576,0–2997,0)	1321,5 (742,0–2632,0) #	1048,5 (816,0–1317,0) ##
UP (g/L)	59,0 (57,0–64,0)	48,8 (45,4–57,5) **	47,0 (42,0–48,0) #	49,5 (48,0–51,0) ^
ALB (g/L)	25,0 (25,0–30,0)	31,4 (30,2–37,5) **	21,5 (20,0–24,0) ##	22,5 (20,0–24,0) ##

MK – mokraćna kiselina; ALT – alanin aminotransferaza; ALP – alkalna fosfataza, α-AMY – alfa amilaza, UP – ukupni proteini, ALB – albumini; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *-p < 0,05 u poređenju sa K grupom; **-p < 0,01 u poređenju sa K grupom; #-p < 0,05 u poređenju sa IFR grupom; ##-p < 0,01 u poređenju sa IFR grupom; ^-p < 0,05 u poređenju sa IP grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

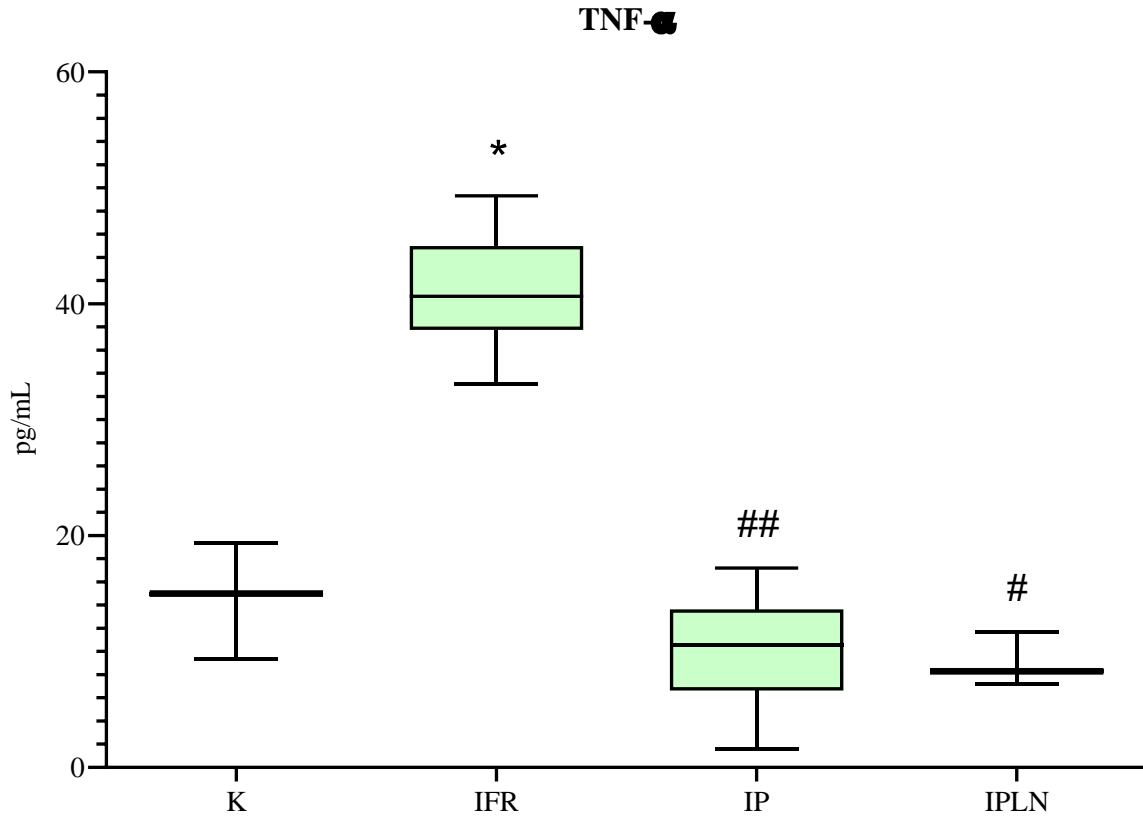
4.5.4 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere inflamacije u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

Merene su vrednosti citokina u kontrolnoj grupi i u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, sa primenom odgovarajućih supstanci (fiziološki rastvor, PK-11195; L-NAME). Primećene razlike unutar grupa prikazane su na **Grafikonima 21–24**. U uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, primana fiziološkog rastvora je povećala vrednosti IL-1 β u grupi IFR (37,5 (29,2–42,5) pg/mL) u odnosu na grupu K (28,3 (23,3–31,7) pg/mL), $p < 0,05$. Koaplikacija PK-11195 i izoprenalina visoko značajno je smanjila vrednosti IL-1 β u grupi IP (20,0 (16,7–23,3) pg/mL) u odnosu na grupu IFR (37,5 (29,2–42,5) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 21**).



Grafikon 21. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju interleukina-1 β (IL-1 β) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

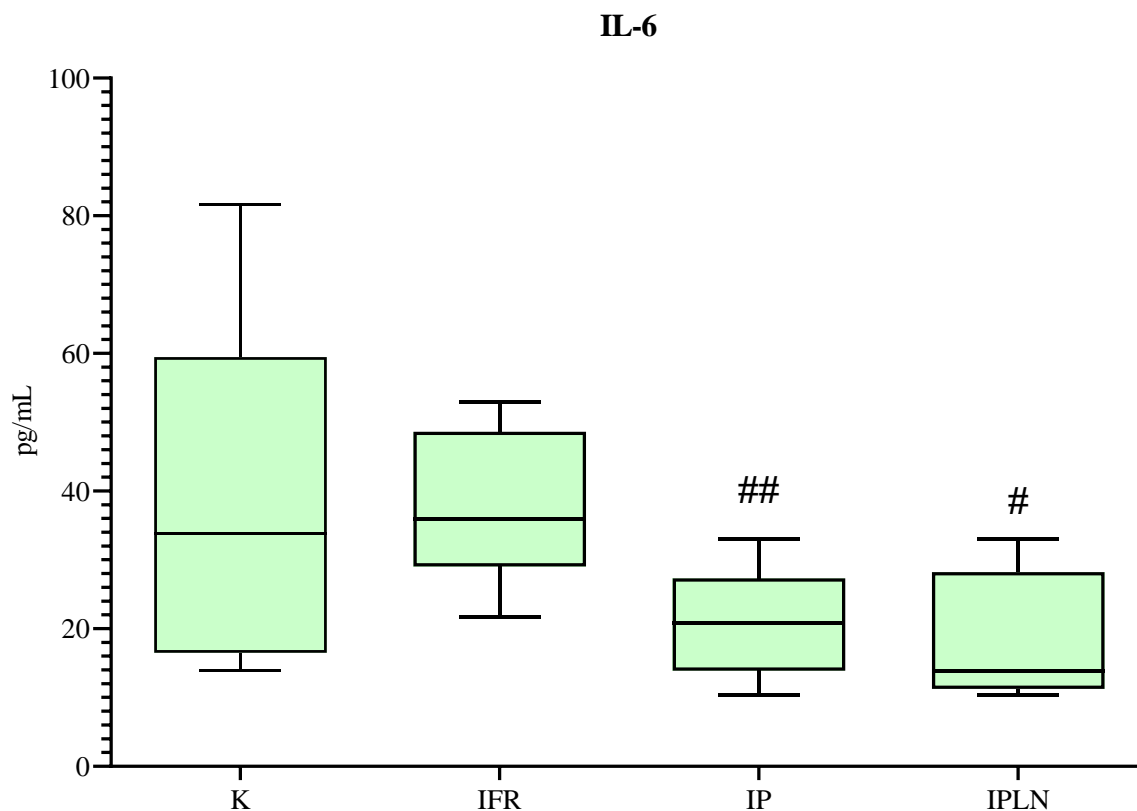
Izmerena vrednost TNF- α je bila statistički značajno viša u grupi IFR (40,6 (33,1–49,3) pg/mL) u odnosu na grupu K (15,0 (9,4–19,4) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 22**). Primena PK-11195 u infarktu miokarda izazvanog ISO, visoko značajno je smanjila vrednost TNF- α u grupi IP (10,5 (1,6–17,2) pg/mL) naspram grupe IFR (40,6 (33,1–49,3) pg/mL), $p < 0,01$. Takođe, koaplikacija PK-11195 i L-NAME kod infarkta miokarda izazvanog ISO, smanjila je vrednost TNF- α u grupi IPLN (8,3 (7,2–11,7) pg/mL) u odnosu na grupu IFR (40,6 (33,1–49,3) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 22**).



Grafikon 22. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju faktora tumora nekroze α (TNF- α) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

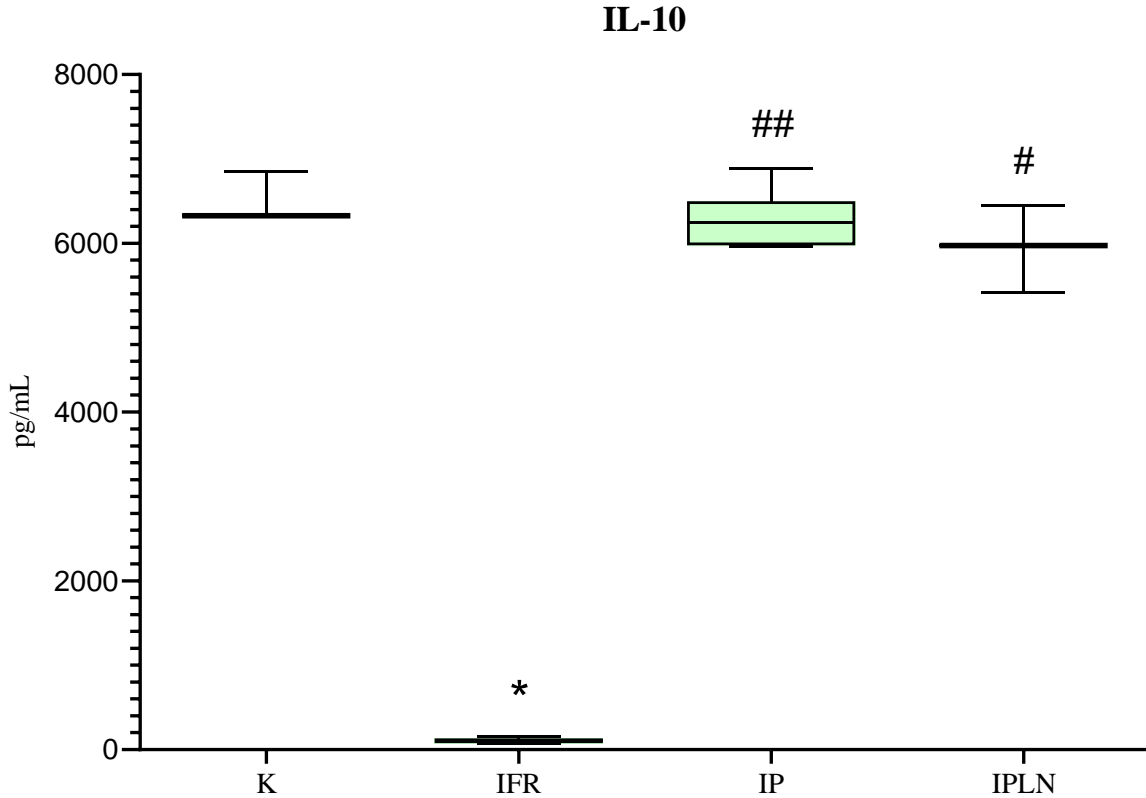
4. Rezultati

Izmerene vrednosti IL-6 nisu se značajno razlikovale između grupa K (33,8 (13,9–81,6) pg/mL) i IFR (36,0 (21,7–52,9) pg/mL), $p > 0,05$. U grupi IP (20,8 (10,4–33,0) pg/mL) je statistički visoko značajno niži nivo IL-6 u odnosu na grupu IFR (36,0 (21,7–52,9) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 23**). Takođe, koaplikacija PK-11195 i L-NAME, u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom smanjila je vrednosti IL-6 u grupi IPLN (13,9 (10,4–33,0) pg/mL) u odnosu na grupu IFR (36,0 (21,7–52,9) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 23**).



Grafikon 23. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju interleukina-6 (IL-6) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

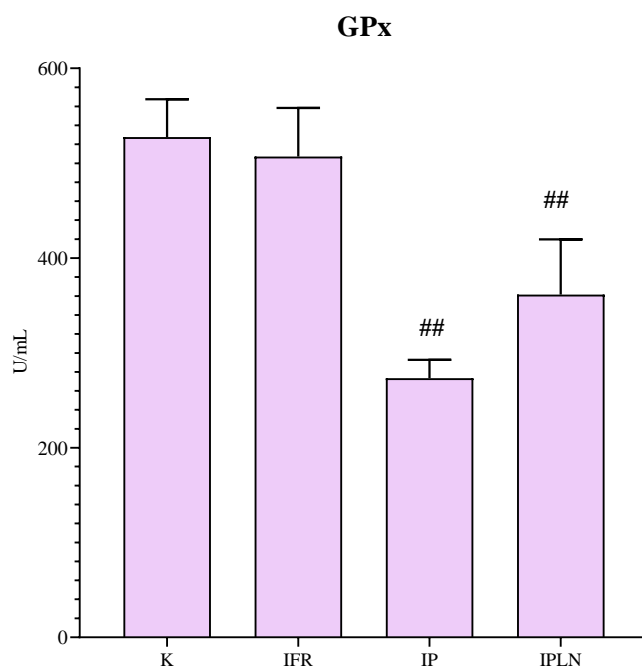
Poređenjem kontrolne grupe i grupe koja je primala fiziološki rastvor i izoprenalin, primećena je statistički značajna razlika. U grupi IFR (111,2 (70,0–155,0) pg/mL) su izmerene značajno niže vrednosti IL-10 naspram grupe K (6327,0 (6317,0–6857,0) pg/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 24**). U grupi IP (6252,0 (5957,0–6892,0) pg/mL) izmerene su statistički značajno više vrednosti IL-10 naspram grupe IFR (111,2 (70,0–155,0) pg/mL), $p < 0,01$. Takođe, koaplikacija PK-11195 i L-NAME, povećala je koncentraciju IL-10 u grupi IPLN (5972,0 (5422,0–6442,0) pg/mL) u odnosu na aplikaciju 0,9%NaCl u uslovima izoprenalinom indukovanoog infarkta miokarda, u grupi IFR (111,25 (70,0–155,0) pg/mL), $p < 0,05$.



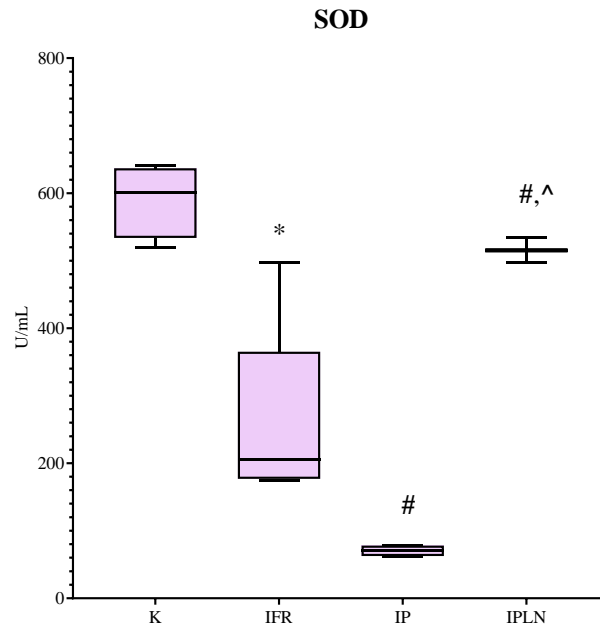
Grafikon 24. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju interleukin -10 (IL-10) u serumu u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom; ##- $p < 0,01$ u poređenju sa IFR grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.5.5 Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na markere oksidativnog stresa u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

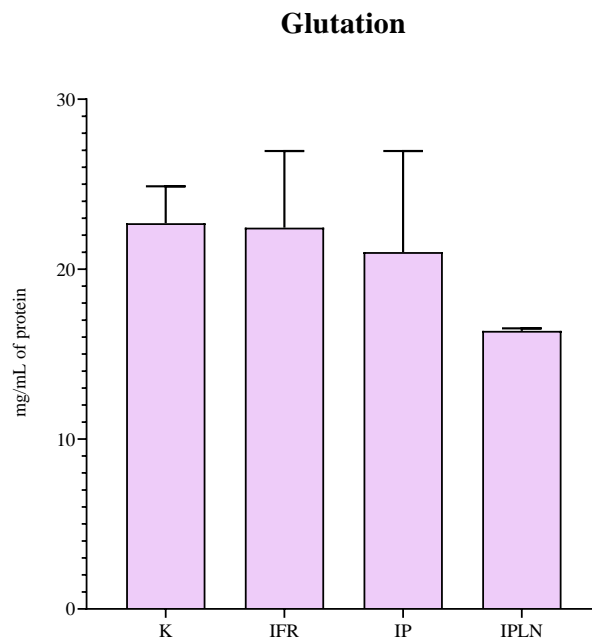
Aktivnosti antioksidativnih enzima poput superoksid dismutaze i glutation peroksidaze, kao i koncentracija ukupnog glutaciona, izmerene su u homogenatu tkiva srca, i primećene su razlike unutar posmatranih grupa (**Grafikon 25–27**). Izmereni nivo aktivnosti GPx je bio visoko značajno niži u grupama IP ($273,35 \pm 19,33$ U/mL) i IPLN ($361,37 \pm 58,19$ U/mL) u odnosu na IFR grupu ($507,07 \pm 51,19$ U/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 25**). Poređenjem grupa IFR ($507,07 \pm 51,19$ U/mL) i grupe K ($527,50 \pm 39,88$ U/mL), primećene su snižene aktivnosti GPx u grupi IFR, ali bez statističke značajnosti, $p > 0,05$. U kontrolnoj grupi ($601,12$ ($519,70–640,40$) U/mL) primećene su značajno viši nivoi aktivnosti SOD u odnosu na grupu IFR ($205,06$ ($174,20–497,20$) U/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 26**). Primena PK-11195 kod izoprenalinom indukovaniog infarkta miokarda, značajno je smanjila nivo aktivnosti SOD u grupi IP ($70,22$ ($61,80–78,70$) U/mL) u odnosu na grupu IFR ($205,06$ ($174,20–497,20$) U/mL), $p < 0,05$. Međutim, koaplikacija PK-11195 i L-NAME, u uslovima infarkta miokarda izazvanog ISO, povećala je nivo aktivnosti SOD u grupi IPLN ($515,45$ ($497,20–533,70$) U/mL) u odnosu na grupu IFR ($205,06$ ($174,20–497,20$) U/mL), $p < 0,05$. Isto tako, koaplikacija PK-11195 i L-NAME naspram aplikacije PK-11195 kod izoprenalinom indukovaniog infarkta miokarda, značajno je povećala aktivnost SOD u grupi IPLN ($515,45$ ($497,20–533,70$) U/mL) u odnosu na grupu IP ($70,22$ ($61,80–78,70$) U/mL), $p < 0,05$. Nije primećena statistički značajna razlika u koncentracijama ukupnog glutaciona poređenjem između grupa K, IFR, IP i IPLN (**Grafikon 27**).



Grafikon 25. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na aktivnost GPx u tkivu srca u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; #- $p < 0,05$ u poređenju sa IFR grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom



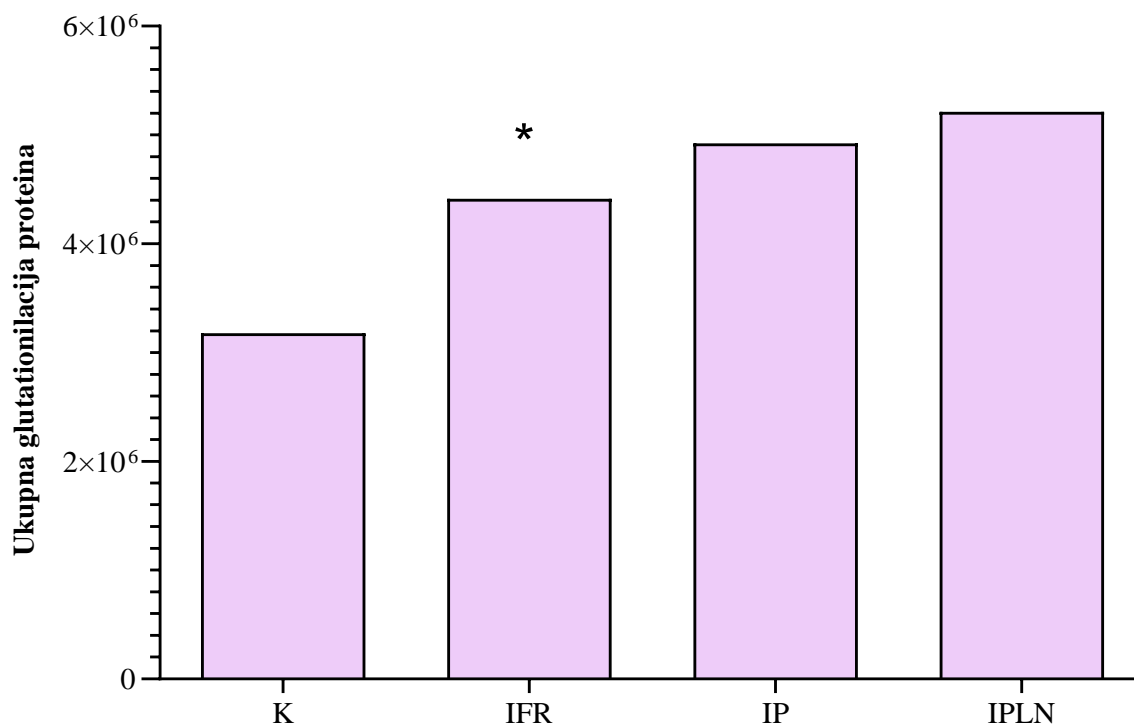
Grafikon 26. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na aktivnost SOD u tkivu srca u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *-p < 0,05 u poređenju sa K grupom; #-p < 0,05 u poređenju sa IFR grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom



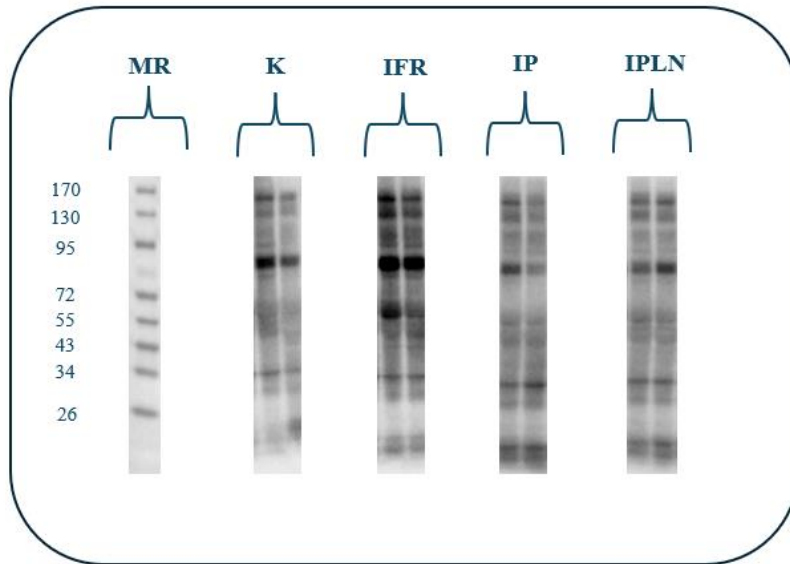
Grafikon 27. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na koncentraciju glutaciona u tkivu srca u ISO indukovanom MI; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; p > 0,05 – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom

4.5.6 Determinacija ukupne S-glutationilacije nakon samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

Slika 11 prikazuje reakciju antitela i glutaciona pomoću traka u grupama K, IFR, IP i IPLN. Slika 12 prikazuje analizu denzitometrije dobijenih *blot*-ova pomoću ImageLab softvera. Smanjen nivo ukupne glutacionilacije proteina je u grupi IFR ($4413910,8 \pm 706691,3$) u odnosu na grupu K ($3178634,4 \pm 560575,7$), $p < 0,05$, određen denzitometrijskom analizom (Grafikon 28).

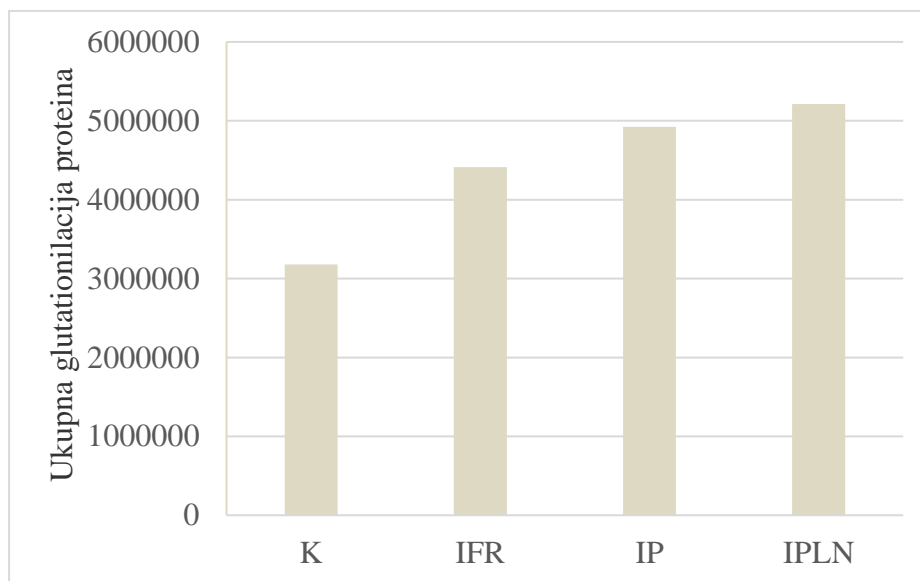


Grafikon 28. Efekti samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME na ukupnu glutacionilaciju proteina u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa K grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom



Slika 11. Nivoi ukupne glutationilacije proteina *Western blot*-om; MR – marker molekularne mase (kDa);

K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.



Slika 12. Analiza denzitometrije dobijenih *blot*-ova-ImageLab softver (Bio-Rad, SAD)

K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.

4.5.7 Histološka analiza uzoraka tkiva srca nakon samostalne aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

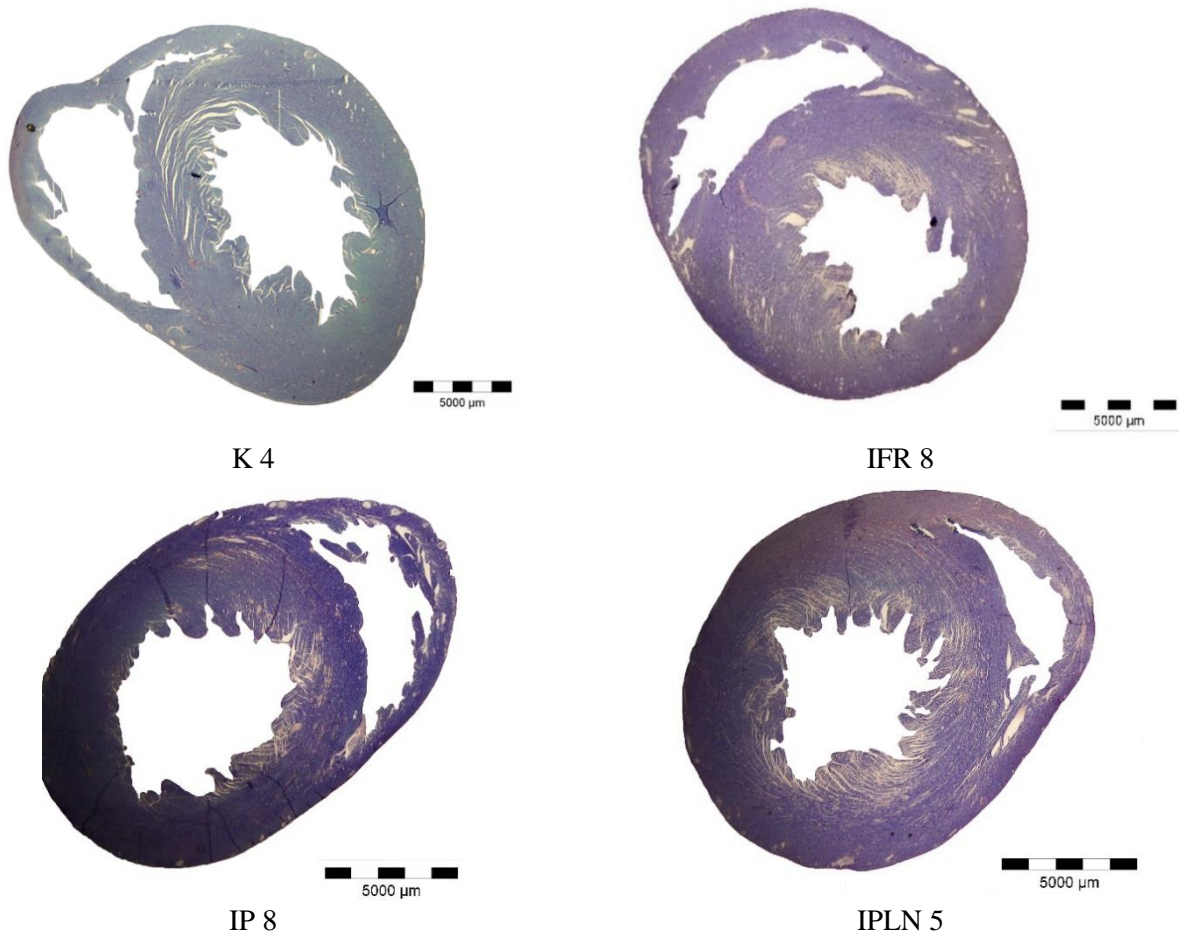
Primećeno je da je u grupi K u 100% slučajeva uzorak tkiva srca bez promena koje ukazuju na ishemiju u poređenju sa grupom koja je tretirana sa ISO i fiziološkim rastvorom, gde je nađeno 80% promena sa gradusom 3 – teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom. Nisu pronađene statistički značajne razlike u poređenju između ostalih grupa.

Tabela 9. Histopatološki stepen oštećenja miokarda izazvanog samostalnom aplikacijom PK-11195 i ko-aplikacijom PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda kod pacova.

	Gradus 0	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	Σ
K	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (100%)
IFR *	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	4 (80%)	5 (100%)
IP	0 (0%)	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	4 (100%)
IPLN	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)
Σ	4 (26,7 %)	2 (13,3 %)	4 (26,7%)	5 (33,3%)	15 (100%)

K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *Fišerov* test: *-p < 0,05 vs. K; gradus 0 – nema promena; gradus 1 – blago fokalno oštećenje miocita ili mala multifokalna degeneracija sa blagim stepenom zapaljenskog procesa; gradus 2 – umereno ekstenzivna miofibrilarna degeneracija i / ili difuzni inflamatorni proces; gradus 3 – teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom

Na **Slici 13** su prikazani primeri poprečnog preseka srca pacova grupa K, IFR, IP i IPLN, uz prikaz leve i desne komore. U kontrolnoj grupi ne vidi se oštećenje miokarda. U grupi tretiranoj sa izoprenalinom i fiziološkim rastvorom vide se nekoliko fokusa infarkta miokarda sa teškim stepenom nekroze i difuznim inflamatornim procesom, dok se u grupi tretiranoj PK-11195 u ISO indukovanom infarktu miokarda vide retki fokusi infarkta miokarda, sa multifokalnom degeneracijom miocita praćena blagim stepenom zapaljenskog procesa. U grupi tretiranoj PK-11195 i L-NAME u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda se vidi nekoliko fokusa infarkta miokarda kako u levoj tako i u desnoj komori, sa umereno ekstenzivnom miofibrilarnom degeneracijom.

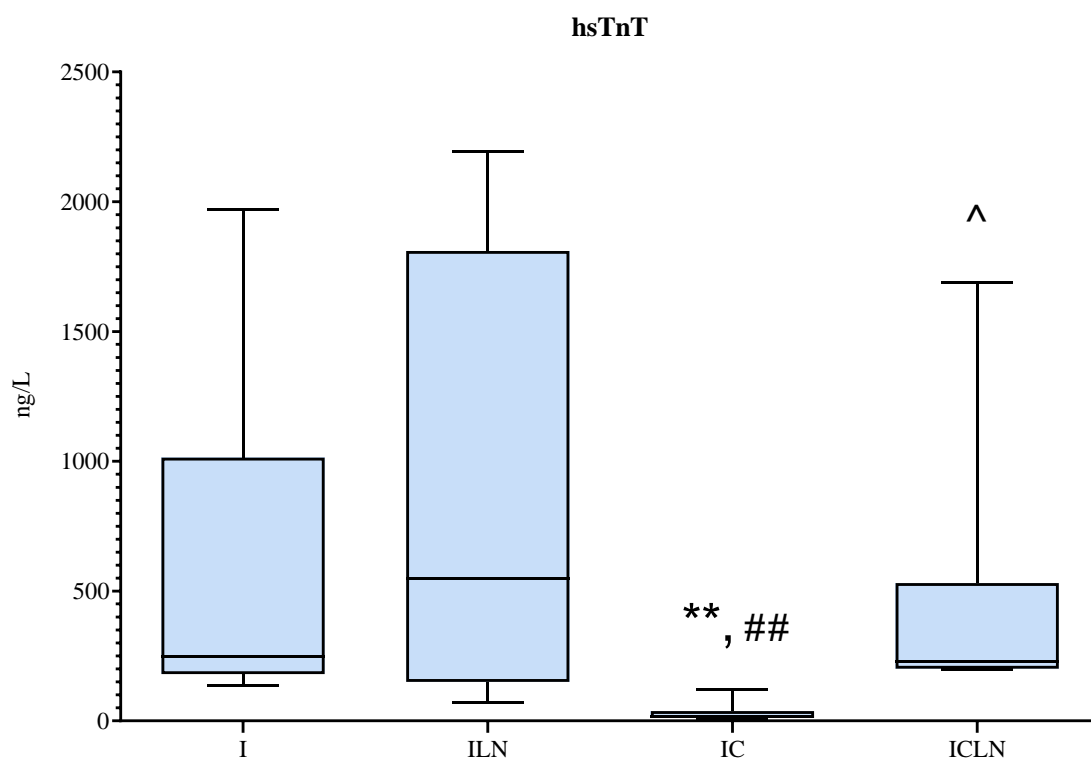


Slika 13. Reprezentativni primeri poprečnog preseka srca pacova, uz prikaz leve i desne komore navedenih eksperimentalnih grupa (PTAH bojenje, uvećanje 12,5 puta); K – f.r. 0,2 mL/2x s.c.; IFR – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + f.r. 0,5 mL/1x i.p.; IP – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p.; IPLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + PK-11195 5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.

4.6 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME

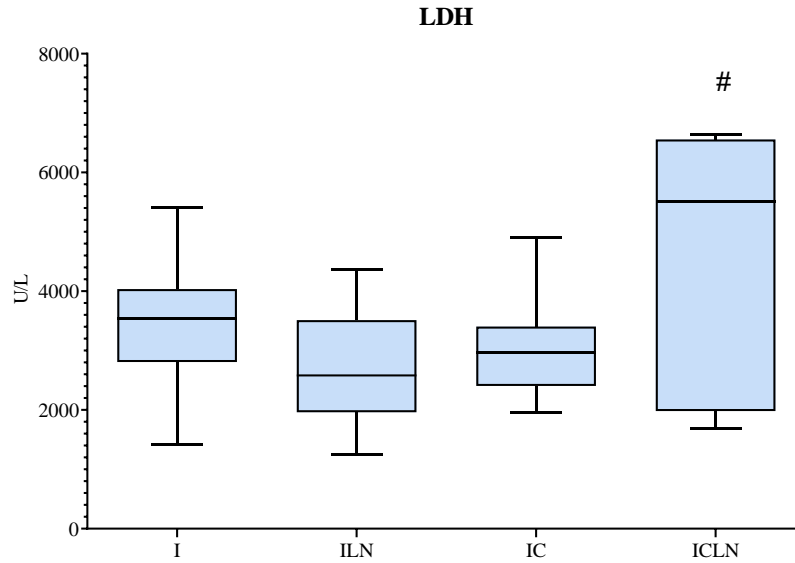
4.6.1 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere ishemijske miokarda u ISO indukovanom infarktu miokarda

Markeri ishemijske miokarda su testirani na kraju eksperimenta u grupama koje su primale ISO, ili su tretirane zajedno sa L-NAME ili 4'-CIDzp, ili sa koaplikacijom L-NAME i 4'-CIDzp. Razlike u koncentracijama markera ishemijske miokarda, poput laktat dehidrogenaze (LDH), aspartat aminotransferaze (AST) i visoko senzitivnog srčanog troponina T (hsTnT), uočene su poređenjem između ovih grupa. Izmerene vrednosti hsTnT su bile statistički visoko značajno niže u grupi IC (18,5 (9,4–120,0) ng/L) u poređenju sa grupom I (247,9 (136,9–1969,0) ng/L), $p < 0,01$ (**Grafikon 29**). Takođe, vrednosti hsTnT su bile statistički visoko značajno niže u grupi IC (18,5 (9,4–120,0) ng/L) u poređenju sa grupom ILN (547,4 (70,5–2192,0) ng/L), $p < 0,01$. Primena ISO + 4'-CIDzp + L-NAME (230,0 (199,0–1688,0) ng/L) je dovela do povećanja vrednosti hsTnT u odnosu na grupu koja je primala samo ISO + 4'-CIDzp (18,5 (9,4–120,0) ng/L), $p < 0,05$. Izmerene vrednosti hsTnT u grupi koja je primala ISO + L-NAME (547,4 (70,5–2192,0) ng/L) su bile povećane ali bez statističkog značaja u poređenju sa grupom koja je primala samo ISO (247,9 (136,9–1969,0) ng/L), $p > 0,05$. Takođe, izmerene vrednosti hsTnT u grupi ILN (547,4 (70,5–2192,0) ng/L) su bile više u poređenju sa grupom ICLN (230,0 (199,0–1688,0) ng/L), ali bez statističkog značaja, $p > 0,05$ (**Grafikon 29**).

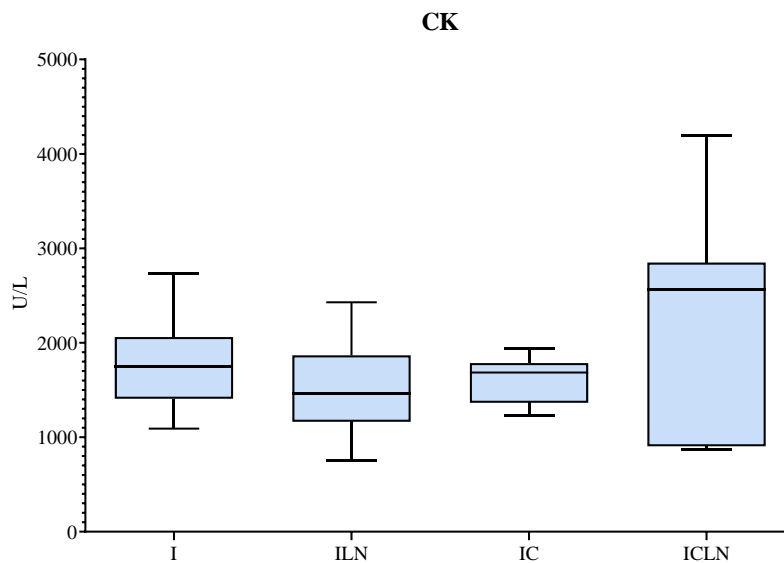


Grafikon 29. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju hs-TnT u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa I grupom, ##- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom; ^- $p < 0,05$ u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

Izmerena aktivnost LDH je statistički značajno viša u grupi ICLN (5516,0 (1682,0–6641,0) U/L) u poređenju sa grupom ILN (2582,5 (1248,0–4365,0) U/L), $p < 0,05$ (**Grafikon 30**). Nije primećena statistička značajnost između navedenih grupa u vrednostima kreatin kinaze (CK) (**Grafikon 31**).



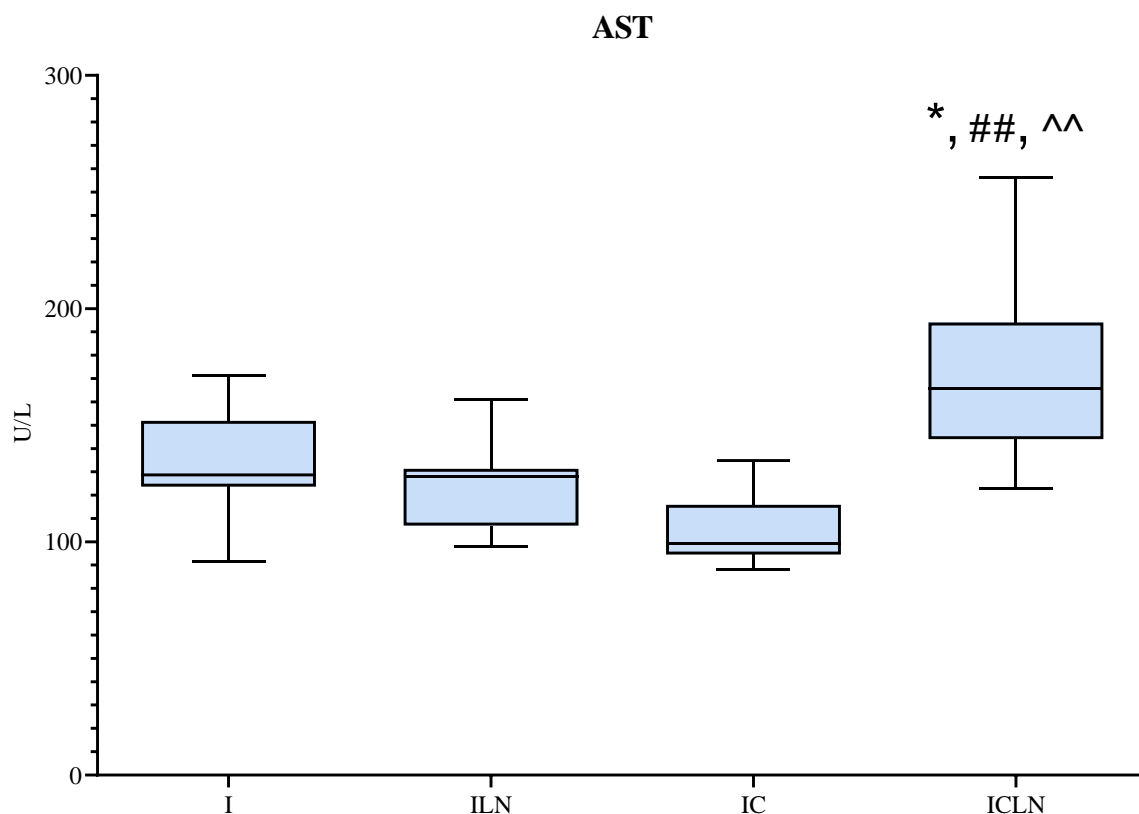
Grafikon 30. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na aktivnost LDH u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; #- $p < 0,05$ vs. ILN grupa – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom



Grafikon 31. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na vrednost CK u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; $p > 0,05$ – *Kruskal-Wallis* test

4. Rezultati

Izmerene vrednosti AST su bile statistički značajno više u grupi koja je tretirana sa ISO + 4'-CIDzp + L-NAME (166,0 (123,0–256,0) U/L) u poređenju sa grupom koja je tretirana samo sa ISO (128,7 (91,8–171,2) U/L), $p < 0,05$. U grupama ILN (128,1 (98,0–161,1) U/L) i IC (99,3 (88,1–134,9) U/L) primećene su statistički visoko značajno niže vrednosti u pređenju sa grupom ICLN (166,0 (123,0–256,0) U/L), $p < 0,01$. U grupi IC (99,3 (88,1–134,9) U/L) zabeležene su blago niže vrednosti AST u odnosu na grupu I (128,7 (91,8–171,2) U/L), ali bez statističkog značaja ($p > 0,05$) (**Grafikon 32**).



Grafikon 32. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na aktivnost AST u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa I grupom, ##- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom, ^^- $p < 0,01$ u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.6.2 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na kardiovaskularne biomarkere u serumu i plazmi u infarktu miokarda indukovanog izoprenalinom

Izmerene vrednosti homocisteina su pokazale statističku značajnosti poređenjem između grupa I, ILN, IC i ICLN. Koncentracija Hcy je bila visoko statistički značajno niža u grupi IC (13,63 (7,8–29,9) $\mu\text{mol/L}$) u odnosu na grupu I (26,93 (20,4–30,8) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,01$. Nakon primene 4'-CIDzp + L-NAME kod MI indukovanog izoprenalinom, primećena je značajno viša koncentracija Hcy u grupi ICLN u odnosu na grupu IC (18,94 (12,8–36,1) $\mu\text{mol/L}$ naspram 13,63 (7,8–29,9) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,05$ (**Tabela 10**).

U grupi ILN nivo ukupnog holesterola (TH) je značajno viši u poređenju sa grupom I (1,9 (1,5–2,5) mmol/L naspram 1,7 (1,5–2,0) mmol/L, $p < 0,05$), a visoko statistički značajno viši u grupi ICLN u poređenju sa grupom I (2,2 (1,7–2,8) mmol/L naspram 1,7 (1,5–2,0) mmol/L, $p < 0,01$). Statistički značajno niži nivo ukupnog holesterola u grupi ILN (1,9 (1,5–2,5) mmol/L) i grupi IC (1,6 (1,3–2,3) mmol/L) u poređenju sa grupom ICLN (2,2 (1,7–2,8) mmol/L), $p < 0,05$. Visoko značajno snižen nivo lipoproteinskog holesterola velike gustine (HDL) je nađen u grupi ICLN (0,6 (0,5–0,7) mmol/L) u poređenju sa grupom I (1,0 (0,8–1,4) mmol/L), $p < 0,01$. Takođe, visoko značajno je snižen nivo HDL u grupi ICLN (0,6 (0,5–0,7) mmol/L) u poređenju sa grupom ILN (1,2 (1,0–1,4) mmol/L) i IC (0,9 (0,8–1,5) mmol/L), $p < 0,01$. Primena 4'-CIDzp, kod MI indukovanog izoprenalinom, visoko značajno je povećala nivo triglicerida (TG) u grupi IC (0,48 (0,4–0,6) mmol/L) u odnosu na grupu I (0,37 (0,3–0,6) mmol/L), $p < 0,01$. Takođe, primena 4'-CIDzp + L-NAME kod MI indukovanog izoprenalinom, je povećala nivo TG u grupi ICLN (0,47 (0,4–0,9) mmol/L) u odnosu na grupu I (0,37 (0,3–0,6) mmol/L), $p < 0,05$ (**Tabela 10**).

Statistički je visoko značajno viši nivo fibrinogena (FIB) u grupi I (3,1 (2,1–3,7) g/L) u odnosu na grupu ICLN (2,3 (2,0–2,5) g/L), $p < 0,01$ (**Tabela 10**). Takođe, statistički je visoko značajno povećanje nivoa FIB nakon primene 4'-CIDzp kod MI indukovanog izoprenalinom, u grupi IC (3,1 (2,3–3,7) g/L) u odnosu na grupu ICLN (2,3 (2,0–2,5) g/L), $p < 0,01$. Primenom 4'-CIDzp + L-NAME kod MI indukovanog izoprenalinom, u grupi ICLN (247,1 (208,0–335,1) %) visoko značajno se povećao nivo *von Willebrand*-ovog faktora (vWF) u odnosu na grupu I (212,5 (114,9–228,6) %), $p < 0,01$. Primenom 4'-CIDzp kod MI indukovanog izoprenalinom, u grupi IC (201,8 (160,6–226,3) %), $p < 0,01$ visoko značajno je snizila nivo vWF u odnosu na grupu ICLN (247,1 (208,0–335,1) %), $p < 0,01$. Takođe, primena L-NAME je smanjila nivo vWF u grupi ILN (217,3 (85–277,6) %) u odnosu na grupu ICLN (247,1 (208,0–335,1) %), $p < 0,05$ (**Tabela 10**).

4. Rezultati

Tabela 10. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na kardiovaskularne biomarkere u serumu/plazmi u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

Biohemijski parametri	I	ILN	IC	ICLN
HCY ($\mu\text{mol/mL}$) ^s	26,93 (20,4–30,8)	28,6 (19,2–38,6)	13,63 (7,8–29,9) **	18,94 (12,8–36,1) ^
TH (mmol/L) ^s	1,7 (1,5–2,0)	1,9 (1,5–2,5) *	1,6 (1,3–2,3)	2,2 (1,7–2,8) **, #, ^
HDL (mmol/L) ^s	1,0 (0,8–1,4)	1,2 (1,0–1,4)	0,9 (0,8–1,5)	0,6 (0,5–0,7) **, ##, ^^
TG (mmol/L) ^s	0,37 (0,3–0,6)	0,43 (0,3–0,9)	0,48 (0,4–0,6) **	0,47 (0,4–0,9) *
FIB (g/L) ^p	3,1 (2,1–3,7)	2,4 (1,9–5,5)	3,1 (2,3–3,7)	2,3 (2,0–2,5) **, ^^
vWF (%) ^p	212,5 (133,3–233,2)	217,3 (85–277,6)	201,8 (160,6–226,3)	247,1 (208,0–335,1) **, #, ^^

Hcy – homocistein, TH – ukupni holesterol, HDL – lipoprotein velike gustine, TG – trigliceridi, FIB – fibrinogen, vWF – *von Willebrand*-ov faktor, s – parametar meren u serumu, p – parametar meren u plazmi; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *-p < 0,05 u poređenju sa I grupom, #-p < 0,05 u poređenju sa ILN grupom, ^-p < 0,05 u poređenju sa IC grupom, **-p < 0,01 u poređenju sa I grupom, ##-p < 0,01 u poređenju sa ILN grupom, ^^-p < 0,01 u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.6.3 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

Nakon primene L-NAME i 4'-CIDzp, kod MI indukovano izoprenalinom, posmatran je njihov uticaj na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu (**Tabela 11**). Između grupa I, ILN, IC i ICLN postoji značajna razlika u koncentracijama uree, mokraćne kiseline (MK) i kreatinina. U grupi ICLN (90,0 (80,0–240,0) $\mu\text{mol/L}$) značajno je povišena koncentracija MK u odnosu na grupe I (66,5 (49,0–76,0) $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,01$), ILN (63,5 (57,0–86,0) $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,01$) i IC (70,5 (58,0–89,0) $\mu\text{mol/L}$, $p < 0,05$). Primena 4'-CIDzp, kod izoprenalinom indukovano MI, visoko značajno je snizila koncentraciju uree u grupi IC (7,7 (7,0–9,6) mmol/L) u odnosu na grupu I (10,0 (8,8–11,3) mmol/L), $p < 0,01$. U grupi ICLN (9,8 (7,7–27,1) mmol/L), izmerena je statistički visoko značajno povišena koncentracija uree u odnosu na grupu IC (7,7 (7,0–9,6) mmol/L), $p < 0,01$. U grupi IC (17,0 (13,0–24,0) $\mu\text{mol/L}$), izmerena vrednost kreatinina je visoko statistički značajno niža u odnosu na grupu I (27,5 (23,0–32,0) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,01$. Primena L-NAME i 4'-CIDzp, kod izoprenalinom indukovano MI, visoko je statistički značajno povećala vrednosti kreatinina u grupi ICLN (42,0 (36,0–55,0) $\mu\text{mol/L}$) u poređenju sa grupama I (27,5 (23,0–32,0) $\mu\text{mol/L}$), IC (17,0 (13,0–24,0) $\mu\text{mol/L}$) i ILN (24,5 (15,0–39,0) $\mu\text{mol/L}$), $p < 0,01$.

Nivo aktivnosti alanin aminotransferaze (ALT) je visoko statistički značajno povišen u grupi ICLN (84,0 (69,0–190,0) U/L), IC (53,9 (46,3–65,5) U/L) i ILN (61,5 (43,3–91,3) U/L) u poređenju sa grupom I (39,1 (35,6–52,2) U/L), $p < 0,01$. Kotretman 4'-CIDzp i ISO, u grupi IC (209,0 (172,5–242,3) U/L) je povisio vrednosti alkalne fosfataze (ALP) u poređenju sa grupom I (167,0 (159,5–178,0) U/L), $p < 0,05$. Primena ISO, 4'-CIDzp i L-NAME je statistički visoko značajno povisila vrednosti ALP u grupi ICLN (258,5 (216,0–288,0) U/L) u odnosu na grupu I (167,0 (140,0–188,0) U/L, $p < 0,01$) i ILN (192,5 (116,0–222,0) U/L, $p < 0,01$), dok je značajno povisila vrednosti ALP u grupi IC (209,0 (158,0–265,0) U/L, $p < 0,05$) u odnosi na grupu ICLN (258,5 (216,0–288,0) U/L). Značajno više izmerene vrednosti alfa-amilaze su u grupi ILN (3094 (1333,0–15960,0) U/L, $p < 0,05$) i IC (3677 (1923–6283) U/L, $p < 0,05$) nego u grupi I (1986 (1493,0–3032,0) U/L), dok je kotretman sa L-NAME i 4'-CIDzp, kod MI indukovano izoprenalinom, dovela do visoko značajnog sniženja vrednosti u grupi ICLN (1077 (595–1734) U/L, $p < 0,01$) za razliku od grupe I (1986 (1493,0–3032,0) U/L), IC (3677 (1923–6283) U/L) i ILN (3094 (1333,0–15960,0) U/L).

Izmerene ukupne koncentracije proteina su bile značajno više u grupi I (48,1 (45,9–50,7) g/L) i ILN (49,0 (43,3–54,9) g/L) u poređenju sa grupom ICLN (46,0 (44,0–48,0) g/L), $p < 0,05$. Isto tako, visoko statistički značajno je snižena koncentracija albumina u grupi ICLN (22,0 (20,0–24,0) g/L) u odnosu na grupe I (31,7 (30,3–34,7) g/L), ILN (32,9 (29,0–37,1) g/L) i IC (32,7 (28,9–35,7) g/L), $p < 0,01$.

4. Rezultati

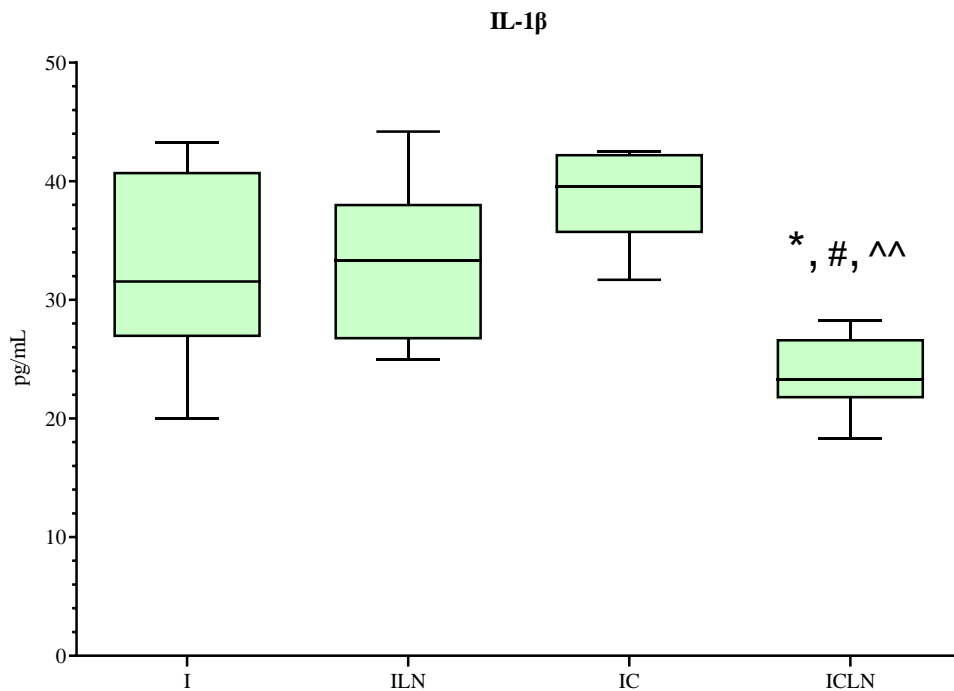
Tabela 11. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na hepato-renalno-pankreatične biomarkere u serumu u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

Biohemijski parametri	I	ILN	IC	ICLN
MK (μmol/L)	66,5 (49,0–76,0)	63,5 (57,0–86,0)	70,5 (58,0–89,0)	90,0 (80,0–240,0) **, ##, ^
Urea (mmol/L)	10,0 (8,8–11,3)	9,9 (6,2–14,8)	7,7 (7,0–9,6) **	9,8 (7,7–27,1) ^^
Kreatinin (μmol/L)	27,5 (23,0–32,0)	24,5 (15,0–39,0)	17,0 (13,0–24,0) **	42,0 (36,0–55,0) **, ##, ^^
ALT (U/L)	39,1 (35,6–52,2)	61,5 (43,3–91,3) **	53,9 (46,3–65,5) **	84,0 (69,0–190,0) **, #, ^^
ALP (U/L)	167,0 (140,0–188,0)	192,5 (116,0–222,0)	209,0 (158,0–265,0) *	258,5 (216,0–288,0) **, ##, ^
α-AMY (U/L)	1986 (1493,0–3032,0)	3094,00 (1333,0–15960,0) *	3677 (1923–6283) *	1077 (595–1734) **, ##, ^^
UP (g/L)	48,1 (45,9–50,7)	49,0 (43,3–54,9)	45,5 (41,8–53,5)	46,0 (44,0–48,0) *, #
ALB (g/L)	31,7 (30,3–34,7)	32,9 (29,0–37,1)	32,7 (28,9–35,7)	22,0 (20,0–24,0) **, ##, ^^

MK – mokraćna kiselina; ALT – alanin aminotransferaza; ALP – alkalna fosfataza, α-AMY – alfa amilaza, UP – ukupni proteini, ALB – albumini; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *-p < 0,05 u poređenju sa I grupom, #-p < 0,05 u poređenju sa ILN grupom, ^-p < 0,05 u poređenju sa IC grupom, **-p < 0,01 u poređenju sa I grupom, ##-p < 0,01 u poređenju sa ILN grupom, ^^-p < 0,01 u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4.6.4 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere inflamacije u infarktu miokarda indukovanom izoprenalinom

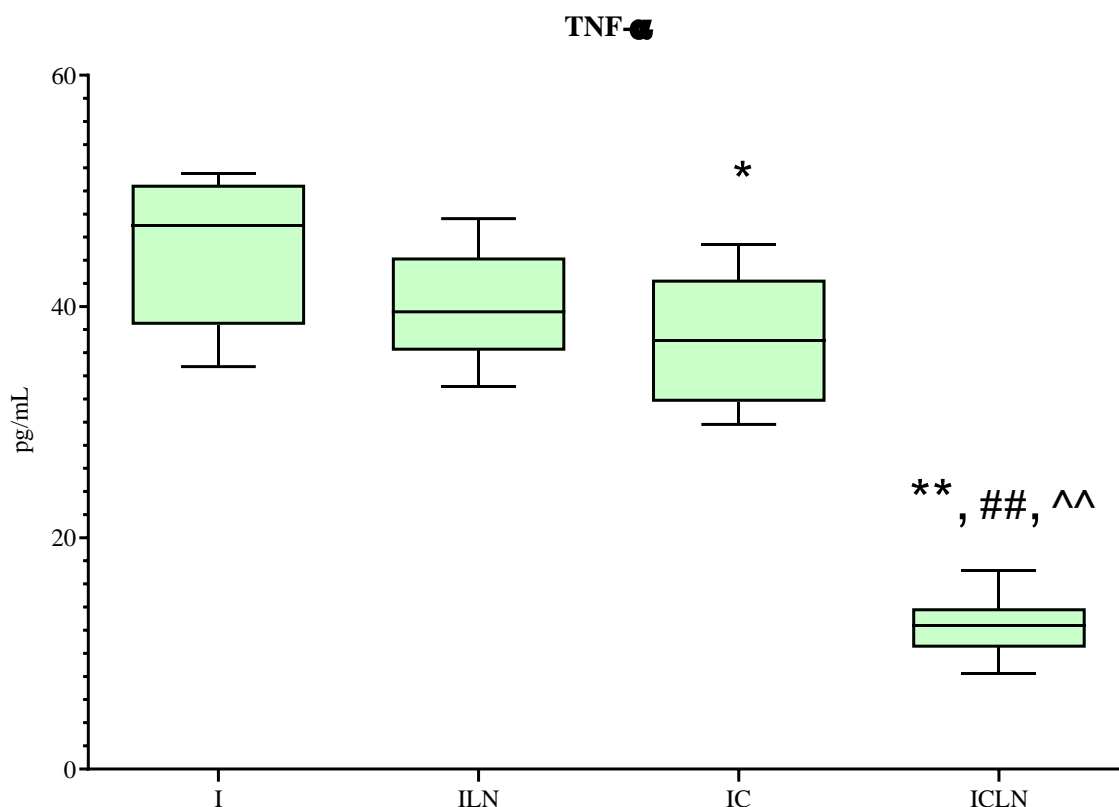
Primećena je razlika u vrednostima citokina između grupa koje su tretirane sa L-NAME i 4'-CIDzp ili kombinovanom primenom obe supstance, L-NAME i 4'-CIDzp u ISO indukovanom MI. Vrednosti proinflamatornih markera, IL-1 β i TNF- α , su smanjene u grupi tretiranoj sa ISO + 4'-CIDzp + L-NAME, dok je vrednost antiinflamatornog markera (IL-10) bio povećan. U grupi koja je tretirana sa ISO + 4'-CIDzp + L-NAME primećene su niže vrednosti IL-1 β u odnosu na grupu tretiranu samo sa ISO (23,3 (18,3–28,3) pg/mL naspram 31,6 (25,0–43,3) pg/mL), $p < 0,05$. Takođe, vrednost IL-1 β je značajno niža u grupi ICLN (23,3 (18,3–28,3) pg/mL) u odnosu na grupu ILN (33,4 (25,0–44,2) pg/mL), $p < 0,05$. Takođe, visoko značajno niža vrednost IL-1 β primećena je u grupi ICLN (23,3 (18,3–28,3) pg/mL) u odnosu na grupu IC (39,5 (31,7–42,5) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 33**).



Grafikon 33. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju IL-1 β u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa I grupom, #- $p < 0,05$ u poređenju sa ILN grupom, ^^- $p < 0,01$ u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

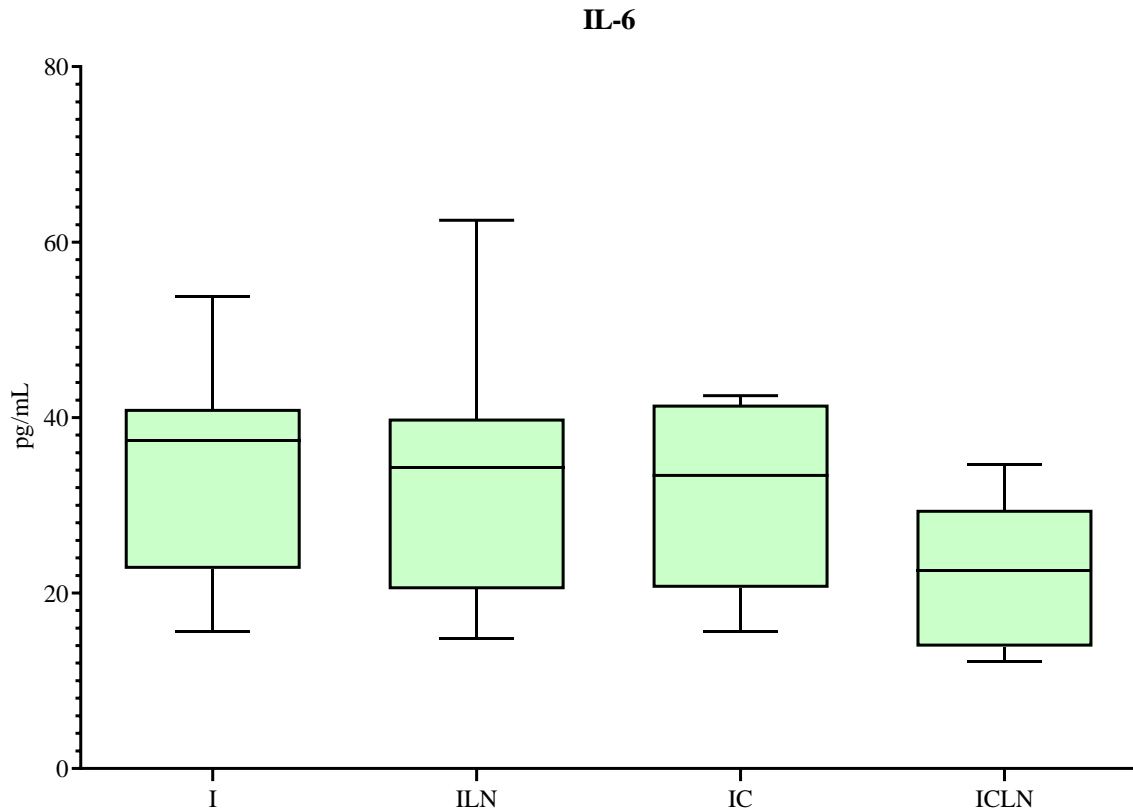
4. Rezultati

Visoko značajno snižena vrednost TNF- α primećena je u grupi tretiranoj koaplukacijom ISO + 4'-CIDzp + L-NAME (12,2 (8,3–17,2) pg/mL) u poređenju sa ISO tretiranom grupom (47,0 (34,8–50,9) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 34**). Takođe, visoko značajno je niža vrednost TNF- α u grupi ICLN (12,2 (8,3–17,2) pg/mL) u odnosu na grupu ILN (39,6 (33,1–47,6) pg/mL) i IC (37,0 (29,8–45,4) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 34**). Značajno viša vrednost TNF- α je primećena u grupi ISO (47,0 (34,8–50,9) pg/mL) u odnosu na grupu koja je tretirana sa ISO + 4'-CIDzp (37,05 (29,8–45,4) pg/mL), $p < 0,05$.



Grafikon 34. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplukacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju TNF- α u serumu u ISO indukovanom MI I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa I grupom, **- $p < 0,01$ u poređenju sa I grupom, ##- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom, ^^- $p < 0,01$ u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

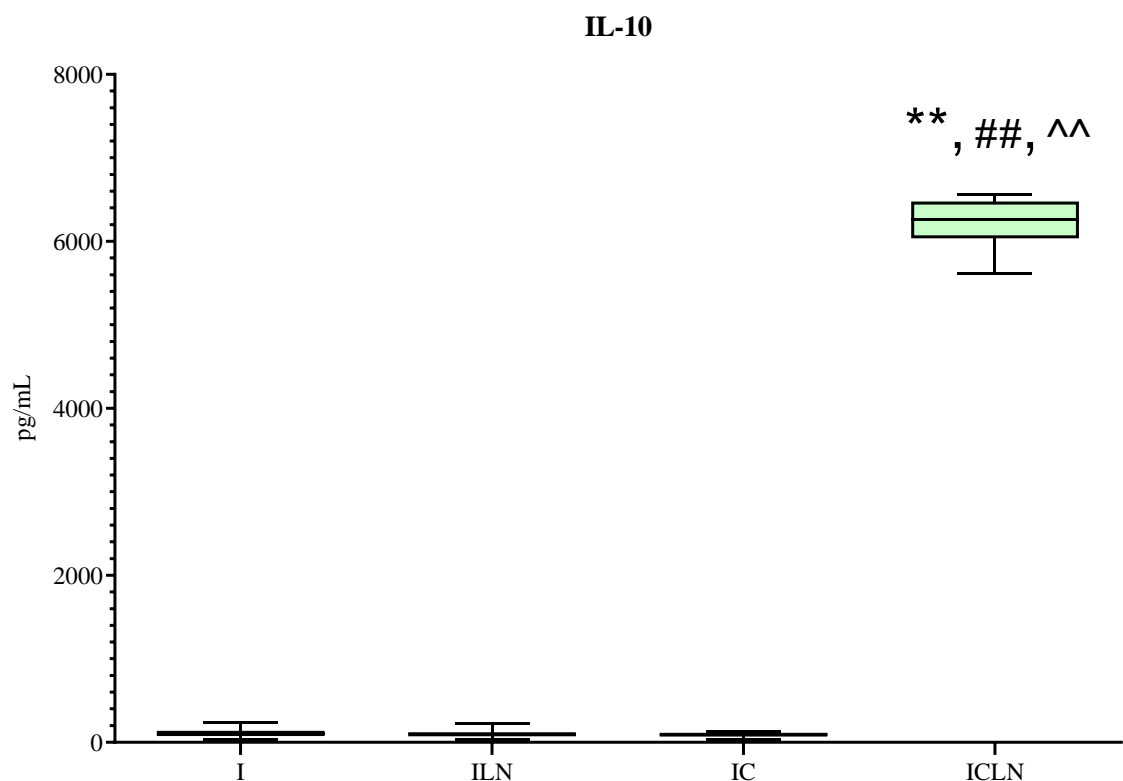
Nisu primećene statistički značajne razlike u vrednostima IL-6 među grupama I, IC, ILN, ICLN (**Grafikon 35**).



Grafikon 35. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju IL-6 u serumu u ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *- $p < 0,05$ u poređenju sa I grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

4. Rezultati

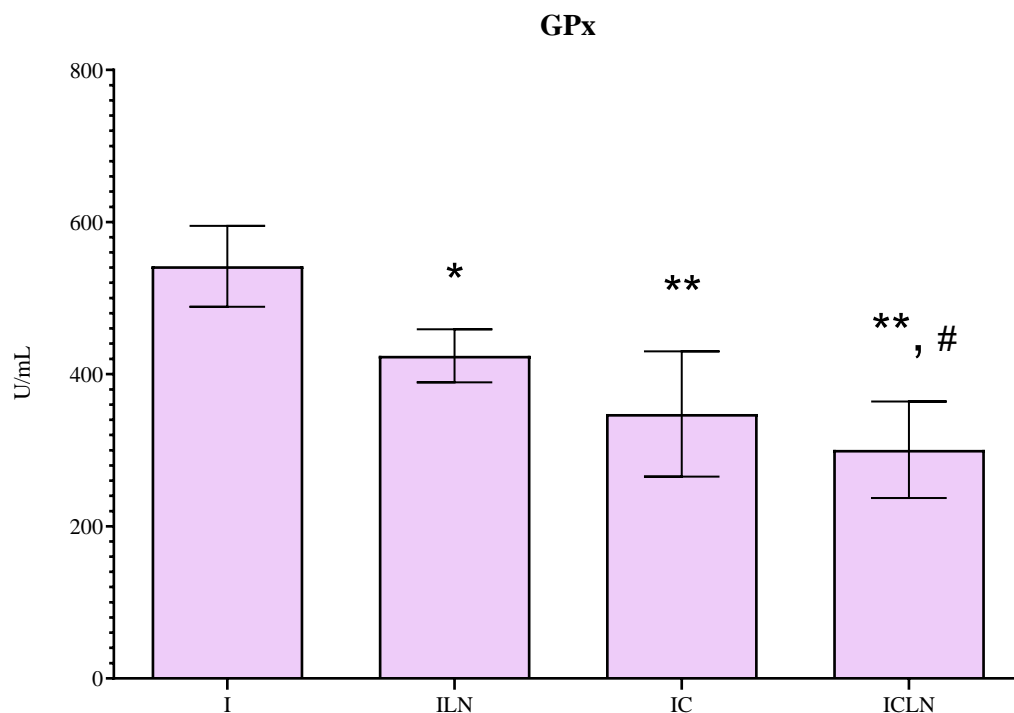
U grupi tretiranoj ISO + 4'-CIDzp + L-NAME (6262,0 (5612,0–6567,0) pg/mL) primećeno je visoko značajno povećanje vrednosti antiinflamatornog citokina, IL-10 u poređenju sa grupom koja je tretirana samo sa ISO (101,3 (30,0–240,0) pg/mL), $p < 0,01$ (**Grafikon 36**). Takođe, visoko značajno povećane vrednosti IL-10 primećene su u grupi ICLN (6262,0 (5612,0–6567,0) pg/mL) u poređenju sa grupama ILN (101,3 (40,0–230,0) pg/mL, $p < 0,01$) i IC (87,5 (37,5–125,0) pg/mL, $p < 0,01$) (**Grafikon 36**).



Grafikon 36. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju IL-10 u serumu ISO indukovanom MI; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa I grupom, ##- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom, ^^- $p < 0,01$ u poređenju sa IC grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom

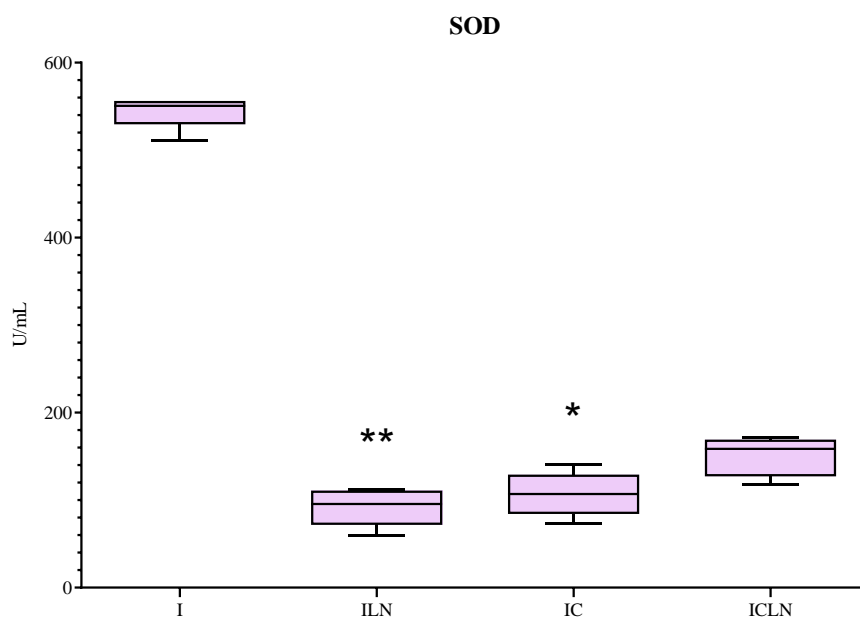
4.6.5 Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na markere oksidativnog stresa u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

Nakon primene L-NAME, primećena je smanjena aktivnost GPx u grupi ILN ($424,1 \pm 34,9$ U/mL) u poređenju sa grupom I ($541,9 \pm 53,3$ U/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 37**). Takođe, visoko statistički značajno je smanjena aktivnost GPx u grupi IC ($347,6 \pm 82,3$ U/mL) kao i u grupi ICLN ($300,6 \pm 63,5$ U/mL), naspram grupe I ($541,9 \pm 53,3$ U/mL), $p < 0,01$. Statistički značajno je povećana aktivnost GPx nakon primene L-NAME, u grupi ILN ($424,1 \pm 34,9$ U/mL), naspram grupe ICLN ($300,6 \pm 63,5$ U/mL), $p < 0,05$ (**Grafikon 37**). Smanjena aktivnost SOD je primećena nakon primene L-NAME, u grupi ILN ($95,5$ ($59,0$ – $112,4$) U/mL, $p < 0,01$), kao i nakon primene 4'-CIDzp, u grupi IC ($106,7$ ($73,0$ – $140,5$) U/mL, $p < 0,05$), u poređenju sa grupom I ($550,6$ ($511,2$ – $556,2$) U/mL) (**Grafikon 38**). Nije primećena statistički značajna razlika u vrednostima glutaciona među grupama (**Grafikon 39**).

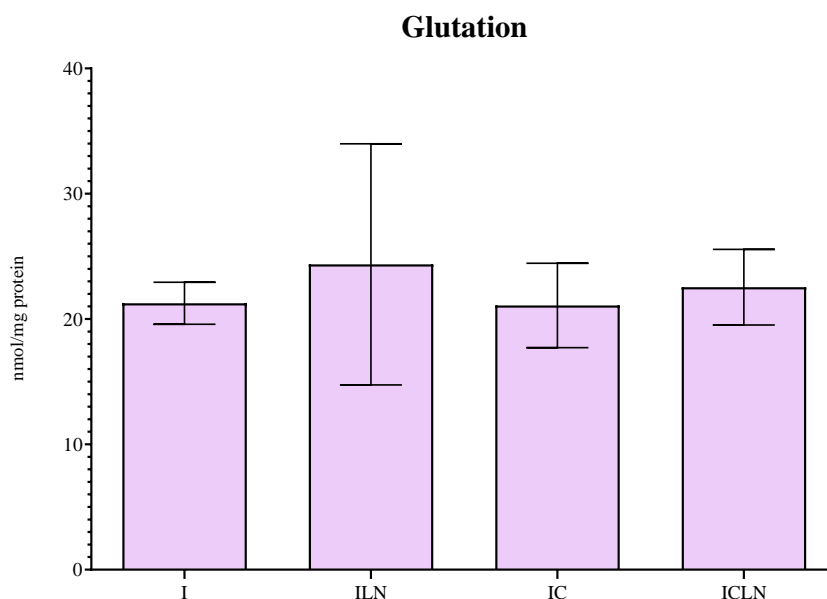


Grafikon 37. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na aktivnost GPx u tkivu srca u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa I grupom, #- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom

4. Rezultati



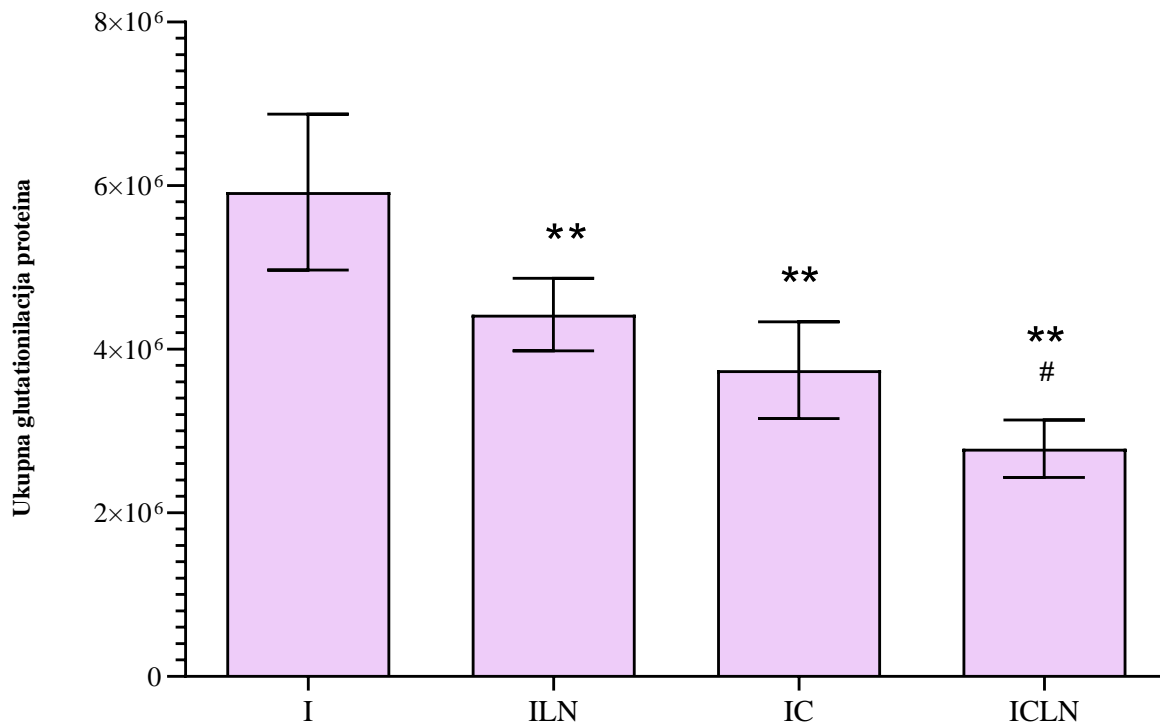
Grafikon 38. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na aktivnost SOD u tkivu srca u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *-p < 0,05 u poređenju sa I grupom, #-p < 0,05 u poređenju sa ILN grupom, **-p < 0,01 u poređenju sa I grupom – *Kruskal-Wallis* test sa *Mann-Whitney* testom



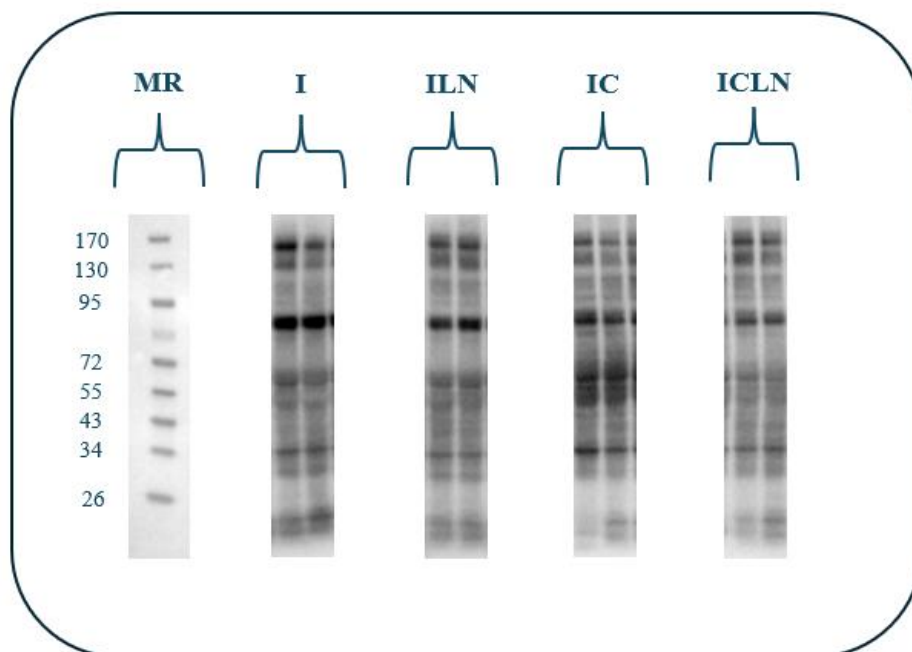
Grafikon 39. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na koncentraciju glutaciona u tkivu srca u uslovima infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; p > 0,05 – *one-way ANOVA* test

4.6.6 Determinacija ukupne S-glutationilacije nakon samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

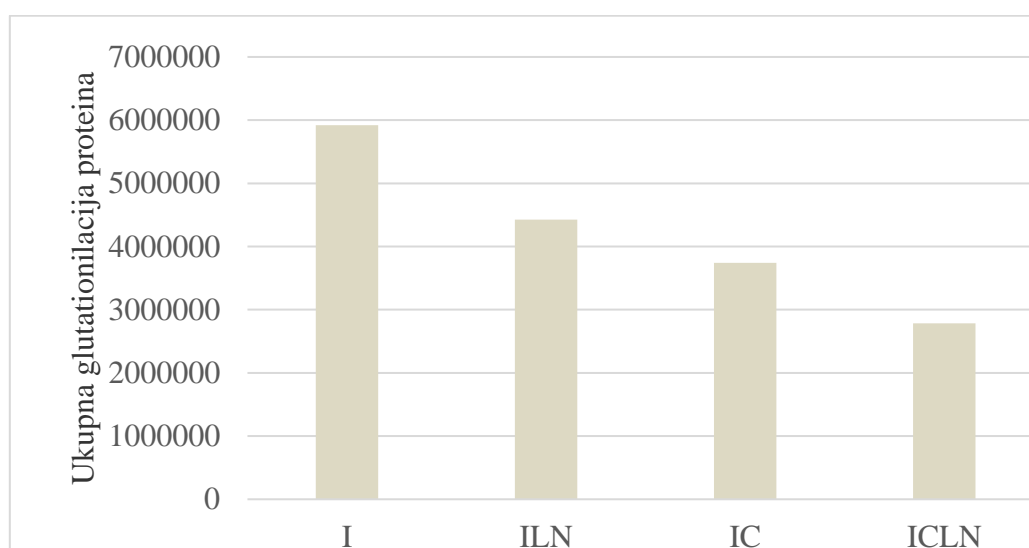
Slika 14 prikazuje reakciju antitela i glutaciona pomoću traka u grupama I, ILN, IC i ICLN, dok **slika 15** prikazuje analizu denzitometrije dobijenih *blot*-ova pomoću ImageLab softvera. Denzitometrijska analiza pokazala je značajno smanjen nivo glutacionilacije proteina u grupama ILN ($4424027,4 \pm 442612,8$), IC ($3743709,0 \pm 592333,1$) i ICLN ($2784181,5 \pm 352330,5$) u poređenju sa grupom I ($5921141,8 \pm 952308,6$), $p < 0,01$. Takođe, značajno je smanjen nivo glutacionilacije u grupi ICLN ($2784181,5 \pm 352330,5$) u odnosu na grupu ILN ($4424027,4 \pm 442612,8$), $p < 0,05$ (**Grafikon 40**).



Grafikon 40. Efekti samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME na ukupnu glutacionilaciju proteina u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom; I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; **- $p < 0,01$ u poređenju sa I grupom; #- $p < 0,01$ u poređenju sa ILN grupom – *one-way ANOVA* sa *Tukey posthoc* testom



Slika 14. Nivoi ukupne glutationilacije proteina *Western blot*-om; MR–marker molekularne težine (kDa); I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.



Slika 15. Analiza denzitometrije dobijenih *blot*-ova-ImageLab softver (Bio-Rad, SAD); I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.

4.6.7 Histološka analiza uzoraka tkiva srca nakon samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME u infarktu miokarda indukovano izoprenalinom

Primećeno je da je u grupi tretiranoj sa ISO + 4'-CIDzp u 80% slučajeva uzorak tkiva srca bez promena koje ukazuju na ishemiju u poređenju sa grupom koja je tretirana sa ISO, gde ima 80% promena sa gradusom 3 – teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom.

Takođe, primećeno je da je u grupi tretiranoj sa ISO + 4'-CIDzp smanjen broj ishemijskih promena u odnosu na grupu tretiranu koaplikacijom 4'-CIDzp i L-NAME u ISO indukovanom infarktu miokarda, gde je u 50% slučajeva zabeležen gradus 3 i u 50% slučajeva gradus 2.

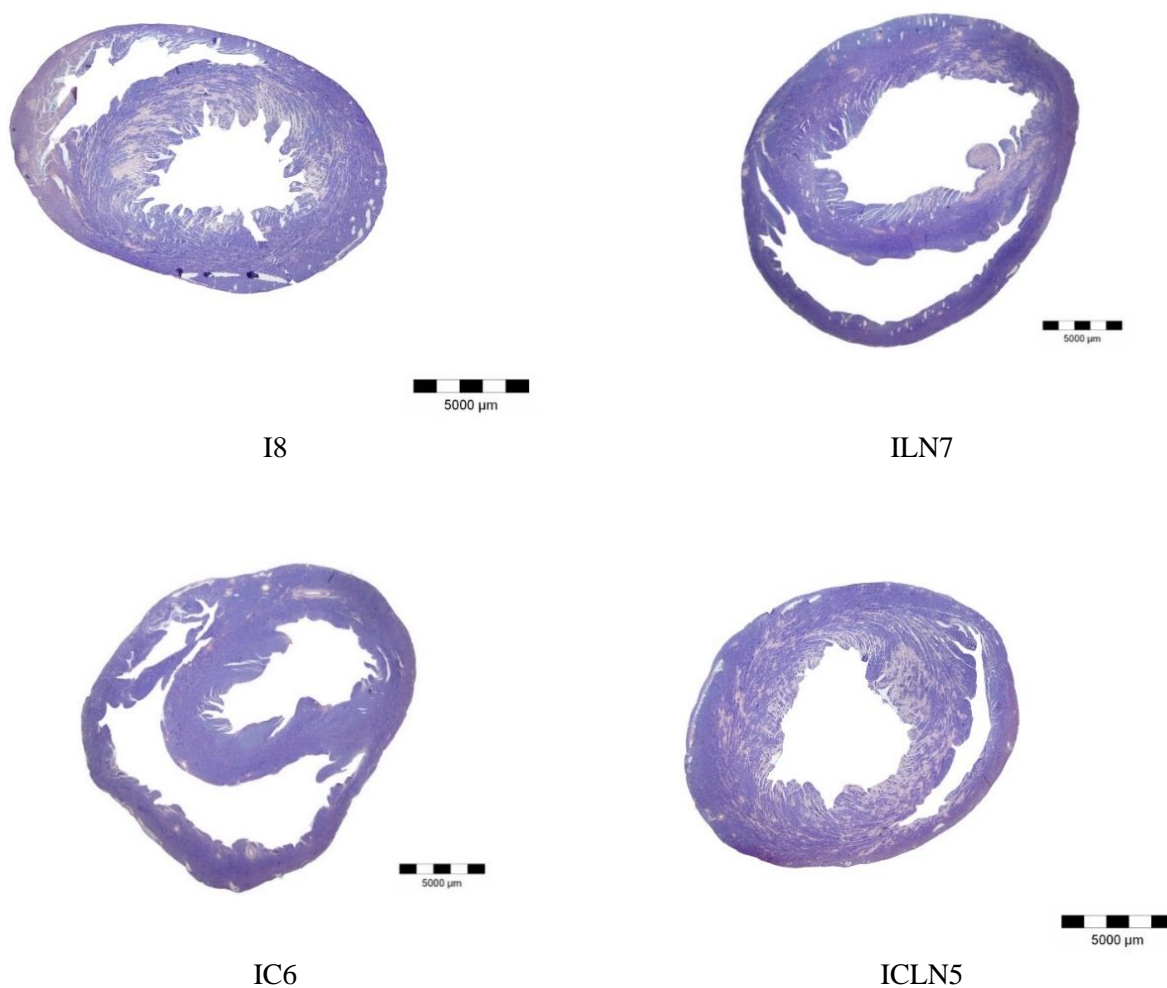
Tabela 12. Histopatološki stepen oštećenja miokarda usled samostalne aplikacije 4'-CIDzp i L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME kod pacova u izoprenalinom indukovanom infarktu miokarda

	Gradus 0	Gradus 1	Gradus 2	Gradus 3	Σ
I	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	4 (80%)	5 (100%)
ILN	0 (0%)	0 (0%)	3 (75%)	1 (25%)	4 (100%)
IC *	4 (80%)	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (100%)
ICLN ^	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)
Σ	4 (22,2%)	1 (5,6%)	6 (33,3%)	7 (38,9%)	18 (100%)

I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; *Fišerov* test: *-p < 0,05 u poređenju sa I grupom, ^-p < 0,05 u poređenju sa IC grupom; gradus 0 – nema promena; gradus 1 – blago fokalno oštećenje miocita ili mala multifokalna degeneracija sa blagim stepenom zapaljenskog procesa; gradus 2 – umereno ekstenzivna miofibrilarna degeneracija i / ili difuzni inflamatorni proces; gradus 3 – teška nekroza sa difuznim inflamatornim procesom

4. Rezultati

Na **Slici 16** prikazani primeri poprečnog preseka srca pacova grupa I, IC, ILN i ICLN, uz prikaz leve i desne komore. U grupi tretiranoj izoprenalinom vidi se na poprečnom preseku srca pacova difuzni transmuralni infarkt miokarda, koji zahvata levu i desnu komoru, i karakteriše se teškom nekrozom sa difuznim inflamatornim procesom. U grupi tretiranoj 4'-CIDzp na poprečnom preseku srca pacova ne vidi se infarkt miokarda, dok se u grupi tretiranoj koaplifikacijom 4'-CIDzp i L-NAME uočava transmuralni infarkt miokarda i u levoj i desnoj komori, sa poljima bez kardiomiocita, nekrotičnim kardiomiocitima, hipereozinofilnim kardiomiocitima i kardiomiocitima bez jedra, uz obilan inflamatorni infiltrat koji se sastoji od makrofaga, neutrofilnih granulocita i limfocita. U grupi tretiranoj L-NAME u ISO indukovanom MI se vidi poprečni presek obe komore sa većim fokusima infarkta miokarda, teškom nekrozom i difuznim inflamatornim procesom.



Slika 16. Reprezentativni primeri poprečnog preseka srca pacova, uz prikaz desne i leve komore navedenih eksperimentalnih grupa (PTAH bojenje, uvećanje 12,5 puta); I – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c.; ILN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.; IC – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. +4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p.; ICLN – ISO 85 mg/kg t.m./2x s.c. + 4'-CIDzp 0,5 mg/kg t.m./1x i.p. + L-NAME 50 mg/kg t.m./1x i.p.

5. Diskusija

Važni mehanizmi koji su u osnovi AMI su oksidativni stres i inflamacija, koji dovode do endotelne disfunkcije, a potom i do razvoja ateroskleroze sa posledičnom ishemijom (Morrison et al., 2023; Fuentes et al., 2019). Kao što je već pomenuto, izoprenalin je simpatomemetik i deluje na $\beta 1$ - i $\beta 2$ -adrenoreceptore, dovodi do kardiostimulacije, delujući pozitivno inotropno i hronotropno (Ahmed et al., 2020). ISO dovodi do periferne vazodilatacije, tahikardije, hipotenzije i hipoksije, potom do oksidativnog stresa i inflamacije, što u krajnjem može dovesti do infarkta miokarda (Timercan et al., 2019). U osnovi kardiotoksičnosti indukovane izoprenalinom, a samim tim i u osnovi akutnog infarkta miokarda indukovanog izoprenalinom su procesi poput oksidativnog stresa, apoptoze i inflamacije (Jghef et al., 2023; Shahzad et al., 2018). U regulaciji mitohondrijalnih funkcija kakve su regulacija respiratornog lanca, membranskog potencijala ili otvaranja mPTP učestvuje TSPO (McEnery et al., 1992). Usled pojačanog nakupljanja Ca^{2+} i pojačanog oksidativnog stresa, dolazi do otvaranja mPTP i "bubrenja" mitohondrija, a posledično do rupture spoljašnje mitohondrijalne membrane i oslobađanja različitih faktora koji dovode do apoptoze (Ramachandra et al., 2020).

U ovoj studiji ispitivani su uticaji različitih agenasa na TSPO i NO sintazu, praćeni su markeri ishemije miokarda, kardiovaskularne biomarkere, parametre oksidativnog stresa i inflamacije, kao i histomorfometrijske parametre srca.

Postoje različiti mehanizmi indukcije eksperimentalnog infarkta miokarda, a posebno se izdvajaju hemijski, hirurški, genetski i lokalna aplikacija pojedinih supstanci (Kumar et al., 2016). MI indukovano izoprenalinom predstavlja zlatni standard među eksperimentalnim modelima MI, a najčešće se koristi u cilju ispitivanja kardioprotektivnih efekata farmakoloških i nefarmakoloških modaliteta lečenja, metoda smanjenja veličine infarktne polja, kao i kardijalnog remodelovanja nakon MI (Rona, 1985; Lobo Filho et al., 2011; Ouyang et al., 2019).

U našem radu primećeno je značajno povećanje KSI nakon primene izoprenalina, što je u skladu sa radovima drugih autora (Heather et al., 2009; Lobo and Shenoy, 2015; Jiang et al., 2017). Povećanje KSI ukazuje na kardijalnu hipertrofiju usled pojačane sinteze proteina, kao i edema intracelularnog prostora. Povećanje ekstracelularnog Ca^{2+} pokreće kaskadu intracelularnih signalnih puteva i posledično dovodi do hipertrofije srca (Shizukuda et al., 1998). Primena PK-11195 i L-NAME je povećala vrednosti KSI u odnosu na grupe tretirane pojedinačno sa PK-11195 i L-NAME, što ukazuje na veći stepen kardijalne hipertrofije. Nakon primene L-NAME i 4'-CIDzp, u uslovima akutnog infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, vrednosti KSI su značajno više u odnosu na grupu IFR, moguće usled većeg gubitka telesne mase u grupi ILN i IC.

Da bismo ustanovili infarkt miokarda u eksperimentalnim uslovima, primenom izoprenalina, praćeni su markeri ishemije miokarda, poput hsTnT, LDH, AST i CK. Visoko senzitivni troponin T je visoko specifičan i senzitivni marker ishemije miokarda i od velike je važnosti pri postavljanju dijagnoze i proceni rizika (Lippi et al., 2009). U uslovima ishemije, usled anaerobnog metabolizma ugljenih hidrata, dolazi do nakupljanja laktata i posledično povišene koncentracije LDH (da Silva et al., 2022). Aspartat aminotransferaza (AST) zajedno sa amino grupama, učestvuje u reakcijama sa aminokiselinama i ketokiselinama kao katalizator, a nalazi se i u citosolu i u mitohondrijama (Panteghini, 1990). AST je rasprostranjen enzim, nalazi se u različitim tkivima, poput jetre, srca, mišića, a takođe je prisutan i u eritrocitima i leukocitima. Povišena koncentracija AST se takođe smatra markerom infarkta miokarda (Lofthus et al., 2012). Indukcija infarkta miokarda izoprenalinom u našoj studiji je potvrđena markerom ishemije miokarda, gde je izmerena povišena vrednost hsTnT, što je u skladu sa drugim autorima (Shahzad et al., 2018; Wong et al., 2017). Niže vrednosti LDH i AST u grupi I u našem radu se razlikuju od rezultata drugih autora što može biti posledica veće doze ISO koje su oni koristili (Thomes et al., 2010). Kreatin kinaza je enzim koji učestvuje u reakciji transformacije kreatina i ATP u kreatin fosfat i ADP i obrnuto (McLeish and Kenyon, 2005). Određivanjem koncentracije CK u ISO indukovanom MI je pokazana lako povišena vrednost, ali bez statističke značajnosti, što se pokazalo i u studijama drugih autora i može se objasniti neadekvatnim vremenom uzimanja uzorka krvi (Zhang et al., 2020; Sharkey et al., 1988).

Poznato je da otvaranje mPTP dovodi do pojačanog oslobađanja CytC i aktiviranja unutrašnjeg puta procesa apoptoze, te se određeni ligandi mogu koristiti za blokiranje TSPO i samim tim inhibiciju otvaranja mPTP. Le Fur i saradnici su još 1983. godine klasifikovali PK-11195 kao antagonistu TSPO

(Le Fur et al., 1983). Ispitivanjem izolovanih kardijalnih mitohondrija, pokazano je da PK-11195 može dovesti do dozno-zavisnog bubrenja mitohondrija, povećanog oslobađanja CytC i rupture mitohondrijalne membrane (Li et al., 2007). Ipak, u našoj studiji pokazano je da primena PK-11195 može dovesti do smanjenja koncentracije hsTnT kod infarkta miokarda indukovano izoprenalinom, što se može objasniti inhibicijom kanala L tipa za Ca^{2+} (Bolger et al., 1990). Nisu primećene statistički značajne razlike u drugim markerima ishemije miokarda u poređenju sa grupom tretiranom sa fiziološkim rastvorom i izoprenalinom. U našem istraživanju, primena PK-11195 i L-NAME kod infarkta miokarda indukovano izoprenalinom dovela je do povećanja koncentracije hsTnT u odnosu na primenu PK-11195 i ISO kao i u odnosu na ISO + 0,9% NaCl tretiranu grupu, usled inhibicije NO sintaze. U našem istraživanju, primećene su statistički značajno više vrednosti AST usled primene PK-11195 i L-NAME, a najverovatnije kao posledica inhibicije enzima cNOS. Taj mehanizam se prikazao i u radovima autora koji su se bavili ishemijsko-reperfuzijskom povredom jetre, gde je pokazan porast transaminaza usled inhibicije kako iNOS tako i cNOS, i posledično nedostatka reperfuzije (Morisue et al., 2003).

Pokazano je da 4'-CIDzp deluje protektivno na mitohondrijalnu membranu, omogućavajući održavanje homeostaze Ca^{2+} tokom i nakon ishemije (Brown et al., 2008). U našoj studiji pokazano je da primena 4'-CIDzp u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom dovodi do visoko statistički značajno niže koncentracije hsTnT u poređenju sa grupom I, što može ukazati na kardioprotektivne efekte 4'-CIDzp. Predhodne studije ukazuju na protektivnu ulogu 4'-CIDzp koja je posredovana inhibicijom otvaranja mPTP (Obame et al., 2007). NO ima dvostruki efekat na miokard, u zavisnosti od doze, te u niskim koncentracijama deluje pozitivno inotropno, dok u visokim koncentracijama deluje negativno inotropno, tako što inhibitorno deluje na respiratorni lanac u mitohondrijama (Cotter et al., 2003). U animalnim modelima infarkta miokarda, pokazano je da povećani nivoi NO, kao i pojačana sinteza NO, imaju negativan efekat na sam ishod MI tako što doprinose disfunkciji miokarda i progresiji srčane slabosti (Feng et al., 2001; Sam et al., 2001). Poznato je da do pojačane sinteze NO dolazi usled ishemije miokarda i produkcije citokina (Cotter et al., 2003). U našem istraživanju, u grupi tretiranoj sa L-NAME i ISO, nisu primećene statistički značajne razlike na markere ishemije miokarda u odnosu na grupu sa infarktomiokarda izazvanog izoprenalinom što je u skladu sa drugim radovima (Ebihara and Karmazyn, 1996). Pokazano je da inhibicija NOS nije imala uticaja na bazalne funkcije kardiomiocita (Shah and MacCarthy, 2000). U grupi tretiranoj sa 4'-CIDzp i ISO, primećene su značajno niže koncentracije AST i hsTnT u odnosu na grupu tretiranu sa 4'-CIDzp, L-NAME i ISO, usled prevage dejstva L-NAME i ISO. Takođe, primećene su statistički značajno više vrednosti AST u grupi tretiranoj sa 4'-CIDzp, L-NAME i izoprenalinom u odnosu na grupe tretirane pojedinačno sa 4'-CIDzp i L-NAME u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom.

Podaci iz literature ukazuju da hiperhomocisteinemija različitim mehanizmima dovodi do narušavanja homeostaze u kardiovaskularnom sistemu. Poznato je da hiperhomocisteinemija dovodi do pojačanog inflamatornog odgovora i oksidativnog stresa i samim tim do različitih oštećenja tkiva (Matté et al., 2009; Li et al., 2015). Homocistein je jedan od nezavisnih faktora rizika za nastanak MI (Senaratne et al., 2000; Hagar, 2002). Todorović i saradnici su pokazali da HHcy kod eksperimentalnih životinja sa aerobnom fizičkom aktivnošću, u tkivu srca dovodi do porasta oksidativnog stresa, kao i do hipertrofije LK (Todorovic et al., 2023). Pokazano je da hiperhomocisteinemija indukovana dijetom bogatom metioniinom vodi ka ispadima u miokardnoj kontraktilnosti, povećanom kardijalnom remodelovanju kao i ka povećanim prokoagulantnim svojstvima endotela (Todorovic et al., 2021; Kostic et al., 2019; Jeremic et al., 2018). U našem istraživanju su dobijene povišene vrednosti Hcy kod eksperimentalnih životinja sa infarktomiokarda indukovano izoprenalinom, što je u skladu sa drugim autorima koji ukazuju na vezu HHcy i AKS (Sun et al., 2021; Koklesova et al., 2021; Ren et al., 2023; Ganesan et al., 2010; Kannan and Quine, 2011). Pokazano je u našem istraživanju da samostalna aplikacija PK-11195 i koaplikacija PK-11195 i L-NAME u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom dovodi do statistički visoko značajnog povećanja koncentracije Hcy u odnosu na IFR grupu, te se ovakav nalaz može objasniti otvaranjem mPTP i pojačanim stvaranjem ROS (Li et al., 2007). U našem istraživanju, primećeno je

da samostalna aplikacija 4'-CIDzp kod infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, dovodi do smanjenja Hcy, usled smanjenog otvaranja mPTP kao i inhibicije proizvodnje ROS (Obame et al., 2007). Takođe, u našem istraživanju je primećeno da koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME kod infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom dovela do povećanja Hcy u grupi ICLN u odnosu na grupu IC, usled smanjene NO produkcije.

U patogenezi infarkta miokarda lipidni status ima veoma važnu ulogu, menjajući strukturu i stabilnost ćelijske membrane (Khalil et al., 2015). U istraživanjima je pokazano da izoprenalinom indukovani infarkt miokarda dovodi do povećanja koncentracije ukupnog holesterola i triglicerida, usled pojačane sinteze lipida posredovane cAMP kaskadom, i smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze (Kareem et al., 2009). Kada je u pitanju lipidogram, zabeležene su značajno niže vrednosti triglicerida i ukupnog holesterola, što se potencijalno može objasniti povećanim zahtevima za energijom u slučaju infarktoma pogođenih ćelija. Uloga TSPO je višestruka, a posebno se ogleda u mitohondrijalnom transportu holesterola u tkiva u kojima se vrši stereoidogeneza (Morin et al., 2016). Primena PK-11195 u infarktu miokarda indukovanim izoprenalinom dovela je do povećanja koncentracije ukupnog holesterola i smanjenja koncentracije HDL-a u našoj studiji, usled pojačanog otvaranja mPTP i rupture mitohondrijalne membrane (Li et al., 2007). Primena PK-11195 i L-NAME u infarktu miokarda indukovanim izoprenalinom dovela je do povećanja koncentracije ukupnog holesterola i smanjenja HDL-a. Pregledavanjem literature uočava se uloga TSPO u transportu holesterola od spoljašnje do unutrašnje mitohondrijalne membrane i tako omogućava kretanje mitohondrijalnog holesterola (Graham, 2015). Primena 4'-CIDzp u modelu ISO indukovanim MI je protektivnim delovanjem dovela do blagog smanjenja ukupnog holesterola, ali bez statističkog značaja i značajno povećala koncentraciju triglicerida. Ipak, primena L-NAME i koaplikacija L-NAME i 4'-CIDzp je dovela do povećanja koncentracije ukupnog holesterola, HDL-a i triglicerida.

Ateroskleroza se nalazi u osnovi većine CVD (Tsao et al., 2022). Jedan od uzroka povezanih sa CVD je i inflamacija. Nekoliko istraživanja je dovelo u vezu povećanu koncentraciju fibrinogena, kao odraz hronične inflamacije, i povećani rizik od nastanka CHD i šloga (Fibrinogen Studies C et al., 2005; Ten Cate and Meade, 2014). Ipak, postoje istraživanja koja nisu dokazala vezu između fibrinogena i CHD (Ward-Caviness et al., 2019). Nakon povrede, sam organizam teži da zaustavi krvarenje, tako što dolazi do konverzije cirkulišućeg fibrinogena u fibrin, pod dejstvom trombina, i formiranja stabilnog ugruška, a glavno mesto sinteze fibrinogena je u jetri (Ząbczyk et al., 2023). U 25% slučajeva, disfibrinogenemija se manifestuje trombozom (Casini et al., 2018; Trelinski et al., 2019). U zavisnosti od sastava lanaca, A α , B β i γ , pokazano je da povećanje koncentracije fibrinogena sa γ lancima, može doprineti razvoju CVD (Allan et al., 2012). Povećanje koncentracije fibrinogena sa γ lancima je u vezi sa povećanim rizikom od arterijske tromboze i šloga (Lovely et al., 2002). Naše istraživanje je pokazalo da su u grupi I primećene povećane koncentracije fibrinogena, što je u skladu sa drugim istraživanjima (Ahmad et al., 2021; Ghazouani et al., 2019). Takođe je pokazano povećanje koncentracije fibrinogena usled primene PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME, što može ukazivati na povećan rizik od tromboze. Koaplikacija L-NAME i 4'-CIDzp je dovela do smanjenja koncentracije u poređenju sa grupama koje su tretirane sa ISO i koaplikacijom ISO i 4'-CIDzp, što može ukazivati na smanjen rizik od tromboze.

Endotelna disfunkcija ima značajnu ulogu u aterosklerozi, gde usled oštećenja endotela dolazi do povećanja endotelnih markera u plazmi, poput vWF (Umadevi et al., 2016). U fiziološkim uslovima, vWF ima krucijalnu ulogu u hemostazi, dok se u patološkim uslovima koncentracija vWF može koristiti kao marker endotelne disfunkcije (Meigs, 2010; Mutavdzin et al., 2019b). Metaloproteinaza, poput ADAMTS13, jedna je od cink zavisnih matriks metaloproteinaza koja ima ulogu uklanjanja vWF. Neka istraživanja su pokazala da se povećan rizik MI javlja kod pacijenata koji imaju povećane koncentracije ADAMTS13 (Chion et al., 2007). Kod pacijenta sa STE infarktoma miokarda, tokom 24 h dolazi do povećanja koncentracije vWF koji dostiže pik nakon 48 h do 72 h (Sakai et al., 2000). Povećane koncentracije vWF su u korelaciji sa rizikom od tromboze, kao i sa rizikom od krvarenja (Peyvandi et al., 2011). U dostupnoj literaturi, uočeno je da koncentracija vWF može predvideti pojavu AMI kao i ukazati na one pacijente koje treba hirurški revaskularizovati (Wu et al., 2021). U našem istraživanju kod grupe sa infarktoma miokarda indukovanim izoprenalinom nije

zabeležen porast koncentracije vWF, verovatno usled ranijeg uzimanja krvi, pre dostizanja pika koncentracije. U našoj studiji, koncentracija vWF je povećana primenom kopalikacije L-NAME i 4'-CIDzp, što može ukazivati na povećan rizik od tromboze.

Mokraćna kiselina jeste jedan od krajnjih produkata metabolizma purina, i ima važnu ulogu u mnogim kardiovaskularnim bolestima poput atrijske fibrilacije, hipertenzije, koronarne bolesti, srčane slabosti i u drugim bolestima poput bubrežne slabosti (Saito et al., 2021). Pokazano je da hiperurikemija dovodi do endotelne disfunkcije tako što stimuliše inflamaciju i oksidativni stres (Maruhashi et al., 2018). Studije su pokazale da visoke koncentracije mokraćne kiseline mogu povećati kardiovaskularne rizike, no osnovni mehanizmi su i dalje nerazjašnjeni (Doehner et al., 2007; Feig et al., 2008). Kao marker aktivnosti ksantin oksidaze služi mokraćna kiselina, a sama ksantin oksidaza je jedan je od enzimskih izvora ROS. U pregledanoj literaturi, primećeno je da inhibicija ksantin oksidaze alopurinolom, nezavisno od dejstva na mokraćnu kiselinu, ima kao posledicu smanjenu proizvodnju ROS kao i smanjenje nivoa oksidativnog stresa (Farquharson et al., 2002). U Roterdam studiji je pokazano da pacijenti preko 55 godina sa visokim koncentracijama mokraćne kiseline imaju veći rizik od nastanka MI i CVI (Bos et al., 2006).

Sugino i Shimada su pokazali da primena izoprenalina dovodi do pojačane produkcije mokraćne kiseline i smanjuje renalnu ekskreciju mokraćne kiseline (Sugino and Shimada, 1987; Aman et al., 2012). Ipak u našem istraživanju nije primećena statistički značajna razlika poređenjem grupe tretirane izoprenalinom i kontrolne grupe, kao ni između grupe tretirane fiziološkim rastvorom i izoprenalinom u poređenju sa kontrolnom grupom. Hiperhomocisteinemija može takođe dovesti do hiperurikemije, što posledično vodi ka povećanju koncentracije ROS, i na taj način se smanjuje raspoloživost NO i posledično dolazi do endotelne disfunkcije (Bajic et al., 2022). U našem istraživanju nije primećena statistički značajna razlika u promeni koncentracije mokraćne kiseline pri aplikaciji 4'-CIDzp ili L-NAME, no pri koaplikaciji 4'-CIDzp i L-NAME u ISO indukovanom MI primećeno je značajno povećanje koncentracije mokraćne kiseline, što ukazuje na značajnu ulogu NO pri ovim efektima. Takođe, pri koaplikaciji PK-11195 i L-NAME beleži se povećanje koncentracije mokraćne kiseline u odnosu na grupe IP i IFR.

Urea je jedan od glavnih produkata metabolizma proteina i primarno se eliminiše pomoću bubrega, te služi kao jedan od markera bubrežne funkcije i predstavlja jedan od prognostičkih faktora mnogih bolesti poput aortne disekcije, pankreatitisa i akutne intracerebralne hemoragije (Wang et al., 2023; Liu et al., 2018; Koutroumpakis et al., 2015; Rhoney et al., 2012). Pregledom literature, primećena je veza između stalno povišenih vrednosti uree tokom hospitalizacije kod pacijenata sa srčanom slabošću i povišenog rizika od CVD i rehospitalizacije usled srčane insuficijencije (Jujo et al., 2017). Pokazano je da se povećani odnos uree i albumina može koristiti kao prediktivni faktor za pojavu ventrikularne aneurizme nakon preležanog infarkta miokarda sa ST elevacijom (Zhang et al., 2024). Studija Kirtane i saradnika (2005) je pokazala kod pacijenata sa nestabilnim koronarnim sindromom i urednom bubrežnom funkcijom ili blago redukovanom bubrežnom funkcijom, da su povišene vrednosti uree povezane sa povećanim mortalitetom, nezavisno od stepena glomerularne funkcije i drugih markera. Pokazano je da su povišene vrednosti uree kao i odnosa uree i kreatinina na prijemu, nezavisni prediktori dugoročnog mortaliteta kod STEMI (Aronson et al., 2008). Huang i saradnici (2022) su pokazali da je povišen odnos između uree i kreatinina povezan sa povećanim rizikom intrahospitalnog mortaliteta kod infarkta miokarda bez ST elevacije. Koncentracija kreatinina je jedan od glavnih pokazatelja glomerularne filtracije i koristi se kao indeks renalne funkcije (Perrone et al., 1992). Smanjen odnos albumina i kreatinina kod infarkta miokarda sa ST elevacijom je obrnuto proporcionalan sa mortalitetom unutar mesec dana, intrahospitalnim mortalitetom i srčanom slabošću (Turkyilmaz et al., 2022; Huang et al., 2023). Primena izoprenalina povećava koncentraciju uree kod animalnih modela infarkta miokarda, dok na koncentraciju kreatinina ne utiče, najverovatnije usled prerrenalnog oštećenja bubrežne funkcije usled smanjenog minutnog volumena srca i kardijalne disfunkcije (Lobo Filho et al., 2011). U našoj studiji nisu primećene statistički značajne razlike u vrednostima uree i kreatinina između grupe tretirane izoprenalinom i kontrolne grupe. Međutim, primećene su povećane vrednosti kreatinina usled koaplikacije izoprenalina i fiziološkog rastvora u odnosu na kontrolnu grupu. Naši rezultati pokazuju da aplikacija PK-11195 i koaplikacija PK-11195

i L-NAME dovodi do smanjenja koncentracije uree i time ukazuje na protektivne dugoročne efekte. Koaplikacija PK-11195 i L-NAME u ISO indukovanom MI je dovela i do povećanja koncentracije kreatinina, što indirektno ukazuje i na njene potencijalne neželjene renalne efekte. Naši rezultati su pokazali značajno smanjenje koncentracije uree i kreatinina u grupi tretiranoj 4'-CIDzp, dok su povećane koncentracije uree i kreatinina primećene kod koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, kod ISO indukovanoj MI ukazujući na moguće neželjene efekte usled smanjene produkcije NO kao posledica dejstva L-NAME.

Albumin je protein koji se nalazi u krvi i čini 40%-60% krvne plazme, sintetiše se u jetri i ima ulogu u transportu raznih materija, u održavanju osmotskog pritiska plazme i kao antioksidans. Utvrđeno je da je albuminurija jedan od značajnih faktora rizika CVD. U HOPE (engl. *Heart Outcomes Prevention Evaluation*) studiji je pokazano da samo prisustvo albuminurije, nezvano od diabetesa melitusa, povećava rizik od MI, CVI i kardiovaskularnog mortaliteta (Gerstein et al., 2001). Pregledom literature viđeno je da je umereno povećanje albuminurije samo po sebi prediktor kardiovaskularnog rizika (Roest et al., 2001; Hillege et al., 2002; McCullough et al., 2007). Povezanost albuminurije i procesa ateroskleroze se odvija putem lokalnog oštećenja endotela i glatkomišićnih ćelija, što za posledicu ima proliferaciju ćelija i povećanje endotelne permeabilnosti (Taddei et al., 1995), a povećana endotelna permeabilnost omogućava lakši prolazak oksidisanog LDL-a u zid krvnog suda i dalji razvoj procesa ateroskleroze. Može se zaključiti da je veći stepen albuminurije pokazatelj endotelne disfunkcije. Albuminurija umerenog stepena kod bolesnika sa AKS ili sa perifernom arterijskom bolešću je proporcionalna veličini infarktne polja ili pojavi kludikacija (Gosling et al., 1991, Hickey et al., 1990). Albuminurija umerenog stepena zajedno sa CRP-om, kod bolesnika sa MI, predstavlja nezavisni faktor rizika za mortalitet (Suleiman et al., 2006, Weber and Hamm, 2008). Naši rezultati pokazuju povećanu koncentraciju albumina u serumu u grupi tretiranoj sa izoprenalinom u odnosu na kontrolnu grupu. Naša studija pokazuje značajno smanjenje koncentracije ukupnih proteina usled aplikacije izoprenalina i usled koaplikacije izoprenalina i fiziološkog rastvora u poređenju sa kontrolnom grupom, najverovatnije usled povećane razgradnje proteina plazme indukovane ROS i pojačane lipidne peroksidacije, što je u skladu sa radovima drugih autora (Rajadurai and Prince, 2007; Lobo and Shenoy, 2015). Primena PK-11195 značajno je smanjila koncentraciju ukupnih proteina u serumu u odnosu na grupu tretiranu sa izoprenalinom i fiziološkim rastvorom, a koaplikacija PK-11195 i L-NAME je povećala nivo ukupnih proteina u odnosu na grupu IP. Koncentracija albumina je značajno smanjena aplikacijom PK-11195 i koaplikacijom PK-11195 i L-NAME. Smanjenje koncentracije ukupnih proteina i albumina je primećeno u našim rezultatima usled koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME kod ISO indukovanoj MI.

Parametri u serumu koji služe kao pokazatelji funkcije jetre su ALP i ALT (Degirmenci et al., 2002). Povećanje koncentracije ovih enzima ukazuje na aktivno oštećenje jetre (de Gouveia et al., 2017). U slučaju povrede mitohondrija dolazi do oslobađanja animotransferaza u cirkulaciju (Kumar Rajagopal et al., 2003). U citoplazmi se nalazi ALP, te nakon povrede ćelije, dolazi do povećanje koncentracije ovog enzima u cirkulaciji (Sallie et al., 1991). Alfa amilaza predstavlja važan enzim pankreasa koji katalizuje hidrolizu ugljenih hidrata (Tundis et al., 2010). Povećanje izmerenih vrednosti ovog enzima se najčešće može videti kod akutnog pankreatitisa. U našem radu pokazane su smanjene vrednosti transaminaza u modelu MI indukovanoj izoprenalinom, dok primena izoprenalina nije uticala na koncentraciju AMY. Aplikacija PK-11195 i koaplikacijom PK-11195 i L-NAME nije uticala na koncentraciju ALT dok je značajno povećala koncentraciju ALP i smanjila koncentraciju AMY u našem radu. Primećene su značajno povećane koncentracije ALT i ALP kao i značajno smanjene koncentracije AMY usled primene 4'-CIDzp i L-NAME kod ISO indukovanoj MI. Takođe, značajno povećane koncentracije ALT, ALP i AMY su primećene usled primene 4'-CIDzp, što ukazuje na moguće neželjene hepato-pankreatične efekte.

U osnovi ateroskleroze se nalazi hronični inflamatorni proces. Sama inflamacija može biti jedan od faktora rizika za MI, te je primećeno da pacijenti koji su imali AMI, imaju povećan stepen inflamacije pre nego povišene nivoe LDL-a (Ridker, 2017). Produžena inflamacija može posledično dovesti do kardijalnog remodelovanja kao i velikih neželjenih događaja (Viola et al., 2021). Tokom MI, važnu ulogu imaju proinflamatorni citokini poput IL-1 β , TNF- α i IL-6, tako što utiču na

kontraktilnost kardiomiocita, inflamaciju, smrt kardiomiocita i endotelnu funkciju (Nian et al., 2004). Ovi citokini se zovu i stresom aktivirani citokini, a karakteristični su za inflamaciju tokom MI (Mann, 1996; Seta et al., 1996). Antiinflamatorni citokini, poput IL-10, pokušavaju da spreče proces ili da smanje štetu već započetog procesa inflamacije (Dinarello, 2000). Makrofazi lokalizovani u aterosklerotskom plaku, sekretuju proinflamatorne sitokine, koji doprinose lokalnom inflamatornom odgovoru (Fujimura et al., 2008; Park and Oh, 2011; Bird et al., 2009). U aktiviranim makrofazima primećeni su povećani nivoi ekspresije TSPO (Laitinen et al., 2009). Preuzimanje TSPO liganda PK-11195 je istraživano u aterosklerotskom plaku, te je primećeno da su povećani nivoi u delu inflamacije u odnosu na druge regije (Laitinen et al., 2009). Važan dijagnostički podatak pružaju visoke koncentracije TSPO u aterosklerotskom plaku kao i prisustvo makrofaga, i tako se može detektovati i odrediti stepen inflamacije u samom plaku pomoću TSPO, kao i morfologija i patogeneza nestabilnog plaka (Bird et al., 2009; Gaemperli et al., 2012).

Pokazan je smanjen broj hospitalizacija usled srčane slabosti kod pacijenata koji su imali IM, primenom inhibitora IL-1 β – canakinumab (Everett et al., 2019). Pokazano je da se kod visoko rizičnih pacijenata, primena inhibitora IL-1 β , značajno smanjuju neželjeni kardiovaskularni događaji (Abbate et al., 2020). U studiji Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trials (VCUART), pokazano je da blokadom IL-1 usled primene anakinra, značajno smanjuje inflamatorni odgovor kod pacijenata sa STEMI, a uočena je i smanjena pojava srčane slabosti (Abbate et al., 2010; Abbate et al., 2013; Van Tassell et al., 2018). U našoj studiji, primena fiziloškog rastvora kod infarkta miokarda indukovanog izoprenalinom, je pokazala povećane vrednosti IL-1 β , no nije pokazana statistički značajna razlika u grupi tretiranoj samo sa izoprenalinom u odnosu na kontrolnu grupu. U dostupnoj literaturi, primećeno je da primena izoprenalina dovodi do povećanja vrednosti IL-1 β (Cinar et al., 2022). Primena PK-11195 kod infarkta miokarda indukovanog ISO, dovela je do značajnog smanjenja vrednosti IL-1 β , moguće usled inhibicije aktivacije multiproteinskog kompleksa NLRP3 (engl. *nucleotide-binding domain-like receptor protein 3 inflammasome*) inflamacije, a koji je inače zadužen sa aktivaciju kaspaze-1 i na taj način, sekreciju proinflamatornih citokina (Li et al., 2018). Poznato je da TSPO ima značajnu ulogu u inflamaciji (McNeela et al., 2018). Kopalikacijom L-NAME i 4'-CIDzp u ISO indukovanom MI, je pokazano smanjenje IL-1 β u našoj studiji, dok samostalna aplikacija L-NAME kao i 4'-CIDzp nije uticala na statistički značajnu promenu vrednosti IL-1 β .

Poznato je da TNF- α učestvuje u infarktu miokarda. On se ne nalazi u kardiomiocitima u fiziološkim uslovima, no prilikom ishemije i anoksije, kardiomiociti se aktiviraju kao i lokalni makrofazi, što dovodi do produkcije TNF- α u zoni zahvaćenoj infarkt (Tian et al., 2015). U zavisnosti za koji receptor se vezuje TNF- α ima dvostruku ulogu. Pri vezivanju za TNFR1, učestvuje u inflamaciji kao i kardijalnom remodelovanju nakon MI, dok pri vezivanju za TNFR2, inhibiše inflamaciju i remodelovanje, smanjuje apoptozu kardiomiocita i deluje kardioprotektivno (Nilsson et al., 2013). U ISO indukovanom MI, kao i pri primeni fiziološkog rastvora u ISO indukovanom MI, u našem istraživanju nađene su povišene koncentracije TNF- α , što može objasniti vezivanjem TNF- α za TNFR1, a u skladu je sa rezultatima drugih autora (Sharma et al., 2023). U našem radu, samostalna aplikacija PK-11195 kao i koaplikacija PK-11195 i L-NAME dovela je do značajnog smanjenja vrednosti TNF- α , usled smanjene aktivacije NF- κ B puta kao i vezivanjem za TNFR2. Primena 4'-CIDzp je smanjila vrednosti TNF- α u ISO indukovanom MI. U našem istraživanju koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME je smanjila vrednosti TNF- α i tako pokazala kardioprotektivno dejstvo u ISO indukovanom MI.

IL-6 je antiinflamatorni citokin koji se nalazi u povećanim koncentracijama tokom MI, i utiče na destabilizaciju plaka, kao i na kardijalno remodelovanje (Ridker et al., 2018). Primena pojedinačne doze tocilizumaba, humanog monoklonskog antitela koje inhibira IL-6 tako što se vezuje za IL-6 receptor, kod pacijenata sa NSTEMI infarkt (Kleveland et al., 2016). U našem radu nije pronađena statistički značajna razlika u nivou IL-6 kod ISO indukovanog MI u odnosu na kontrolnu grupu što je u skladu sa drugim autorima (Cheng et al., 2022). Samostalna aplikacija 4'-CIDzp i L-NAME, kao i koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME u modelu MI indukovanog ISO nije uticala na statistički značajnu promenu vrednosti IL-6, te njihov mehanizam delovanja ne utiče na inflamatornu komponentu MI. U našem radu samostalna aplikacija

PK-11195 kao i koaplikacija PK-11195 i L-NAME je dovela do značajnog smanjenja vrednosti IL-6, što može objasniti potencijalnu antiinflamatornu ulogu primene PK-11195 u MI.

IL-10 ima ulogu supresije akutne faze inflamatornog odgovora i učestvuje u regulaciji metabolizma ekstracelularnog matriksa (Frangogiannis et al., 2002). IL-10 suprimira produkciju IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 i IL-8, pomoću lipopolisaharid aktiviranih monocita, i tako suprimira inflamaciju (Frangogiannis et al., 2002). Inhibišući ekspresiju matriks metaloproteinaza, IL-10 ima značajnu ulogu i formiranju ekstracelularnog matriksa (Lacraz et al., 1995). Pregledom literature nađeno je da je u odsustvu IL-10 pojačan inflamatorni odgovor, što se ogleda povećanim vrednostima TNF- α , povećanim vrednostima nitrita/nitrata i povećanom tkivnom ekspresijom ICAM-1 (Yang et al., 2000). Pokazano je da primena izoprenalina smanjuje vrednosti IL-10 (Sharma et al., 2023), što je uočeno i u našem istraživanju. U modelu MI indukovano ISO smanjene su vrednosti IL-10, kao i u grupi koja je primala fiziološki rastvor kod MI indukovano izoprenalinom. U našem radu je primećen povećanje vrednosti IL-10 kod samostalne aplikacije PK-11195, kao i koaplikacije PK-11195 i L-NAME, što ukazuje na pojačanu supresiju inflamatornog odgovora, a i samim tim kardioprotektivno dejstvo. Koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME u modelu MI indukovano ISO je povećala vrednosti IL-10 u odnosu na ostale grupe. Iz prethodnog proizilazi da PK-11195 i L-NAME utiču pozitivno na povećanje IL-10.

Smanjeni nivoi proinflamatornih citokina (IL-1 β , TNF- α) kao i povećani nivoi antiinflamatornih citokina (IL-10) su primećeni u grupi tretiranoj koaplikacijom 4'-CIDzp i L-NAME u modelu MI indukovano ISO, u poređenju sa izoprenalinom indukovanim MI, što može ukazati da koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME utiče na balans proinflamatornih i antiinflamatornih citokina. Kao što je već rečeno, modulacija TSPO je povezana sa otvaranjem mPTP, te bi rezultatima dobijenim u našem istraživanju koristilo merenje otvaranja mPTP i samim tim bi imali bolji uvid u samu patofiziologiju.

Oksidativni stres ima veoma važnu ulogu tokom strukturnog miokardnog oštećenja i kardijalnog remodelovanja. U regulaciji oksidativnog stresa i otvaranju mPTP učestvuje TSPO (Tsutsui et al., 2009; Maulik and Kumar, 2012). Stanja koja su povezana sa povećanim nakupljanjem ROS, kao i povećanom akumulacijom Ca²⁺, dovode do pojačane propustljivosti mPTP, a to predstavlja glavni događaj pri ćelijskoj povredi (Javadov et al., 2009). Pregledom literature primećena je jaka veza između remodelovanja ekstracelularnog matriksa i oksidativnog stresa (Maulik and Kumar, 2012).

Kardijalni oksidativni stres se javlja tokom akutne a i hronične primene isoprenalina (Zhang et al., 2005). Mnogi su izvori ROS, poput aktivacije vaskularnog NADP oksidaze, ksantin oksidaze, angiotenzina II i aldosterona, autooksidacije kateholamina, iNOS-a i oslobađanja proinflamatornih citokina (Bagatini et al., 2011). Fosfolipidi i proteini su sastavni deo membrana. Proteini su molekuli koje ROS razgrađuje (Dalle-Donne et al., 2003). Peroksidacijom lipida membrane, ROS posledično dovodi do nekroze (Lazzarino et al., 1994). ROS aktivira mnoge signalne puteve, poput mitogen aktivirane protein (MAP) kinaze, što posledično vodi ka kardijalnoj hipertrofiji (Maulik and Kumar, 2012).

ROS pogađa i matriks metaloproteinaze koje imaju krucijalnu ulogu tokom fiziološkog procesa remodelovanja tkiva. Miokardijalna MMP aktivnost se povećava kod kardijalne dekompezacije (Spinale et al., 1998; Creemers et al., 2001). U animalnom modelu MI primećeno je da primenom inhibitora MMP dolazi do smanjenja dilatacije leve komore (Rohde et al., 1999). Primenom izoprenalina, primećeno je da se takođe aktivira MAPK signalni put (Gan et al., 2020), koji obuhvata p38, ekstracelularnu receptor kinazu (ERKs) i c-Jun kinazu (JNK). Pregledom literature, nađeno je da primena ISO u animalnim modelima dovodi do značajne kardijalne disfunkcije aktiviranjem MAPK-zavisnog puta i posledično oksidativnog stresa (Zhang et al., 2016). Može se zaključiti da se poboljšanje mitohondrijalne funkcije može ostvariti inhibicijom ROS, i sprečavanjem kardijalne hipertrofije i dalje progresije ka kardijalnoj disfunkciji. Na endogeni antioksidativni sistem, u koji spadaju SOD, CAT i GSH-Px, može uticati oksidativni stres (Gimenes et al., 2018). Pregledom literature, nađeno je da niske koncentracije ROS stimulišu antoksidativnu odbranu i samim tim povećavaju aktivnost antioksidativnih enzima, a nasuprot tome visoke koncentracije ROS inhibiraju

aktivnost antioksidativnih enzima (Radak et al., 2005). Poznato je da mitohondrijalni SOD uklanja superoksidne anjone, rezultujući stvaranjem vodonik peroksida i kiseonika (Dhalla et al., 2000). Pomoću enzima CAT i GPx, uklanja se vodonik peroksid (Dhalla et al., 2000). GSH, pored uloge u antioksidativnoj odbrani, služi kao i kofaktor glutacione transferaze i uklanja preostale slobodne radikale (Kumar et al., 2016).

U našoj studiji, nisu pokazane statistički značajne razlike u aktivnosti SOD i GPx između grupe sa ISO indukovanim MI i kontrolne grupe, za razliku od drugih autora koji su pokazali smanjene aktivnosti enzima SOD, GPx i glutaciona kod primene izoprenalina (Hasan et al., 2020; Sharmila et al., 2018; Mi et al., 2023).

Aplikacija 4'-CIDzp ili L-NAME u modelu MI indukovnog ISO dovela je do smanjenja aktivnosti antioksidativnih enzima SOD i GPx, dok je koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME dovela samo do smanjenja aktivnosti GPx. Iz ovoga nam se nameće pitanje, da li je to posledica protektivnih efekata 4'-CIDzp u uslovima smanjene mitohondrijalne produkcije superoksida, hidrogen peroksida i lipidnih hidroperoksida koji su praćeni smanjenjem aktivnosti antioksidativnih enzima? Naši rezultati koji ukazuju na protektivne efekte 4'-CIDzp su u skladu sa drugim studijama (Brown et al., 2010), koje su takođe pokazale protektivne efekte 4'-CIDzp kod animalnog modela aritmija i oksidativnog stresa indukovanih diamidom. Uzimajući sve u obzir, rezultati ukazuju na poboljšanje mitohondrijalne funkcije tokom miokardne povrede i ishemije usled primene 4'-CIDzp. Protektivni efekti 4'-CIDzp potencijalno se mogu pripisati smanjenju oksidacionog stresa, što je u skladu sa drugim studijama (Jaiswal et al., 2010). Naši rezultati koji pokazuju smanjenje aktivnosti SOD kod grupe tretirane sa L-NAME se mogu objasniti time da L-NAME u srcu dovodi do pada aktivnosti SOD. Promene u aktivnosti antioksidativnih enzima nisu praćene statističkom značajnošću u pogledu aktivnosti ukupnog glutaciona, najverovatnije usled nepromenjene sinteze ovog enzima. No, limit naše studije je nemogućnost merenja nivoa redukovanog i oksidovanog glutaciona.

Smanjenje aktivnosti SOD je primećeno kod primene fiziološkog rastvora kod modela MI izazvanog ISO. U modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom, smanjenje aktivnosti GPx i SOD je izazvala aplikacija PK-11195, najverovatnije usled stimulacije mPTP, povećanog ulaska Ca^{2+} unutar mitohondrija, povećanog bubrenja mitohondrija i konformacionih promena na respiratornom lancu, što sve posledično vodi ka deficijenciji ADP i „curenju“ elektrona, a povećana propustljivost mitohondrijalne membrane vodi ka pojačanoj ROS produkciji (Seidlmayer et al., 2021). U literaturi je uočeno da aplikacija PK-11195 samo tokom reperfuzije može dovesti do smanjenja ROS produkcije, tako što povećava oksidaciju sukcinata i inhibiše RIRR, moguće delovanjem na mitohondrijalni ATP sintaza kompleks (Seidlmayer et al., 2021; Zhang et al., 2018). Koaplikacija PK-11195 i L-NAME je dovela do smanjenja aktivnosti GPx, ali do povećanja aktivnosti SOD. Promene aktivnosti u nivou ukupnog glutaciona nisu zabeležene među grupama.

Posttranslaciona modifikacija je hemijska modifikacija proteina nakon njegove translacije, i jedan od koraka biosinteze velikog broja proteina. Kao jedan od vidova posttranslacione modifikacije je i S-glutationilacija proteina, i ona je sastavni deo mnogih signalnih mehanizama u okviru kardiovaskularnih bolesti. S-glutationilacija proteina učestvuje u oksidativnoj fosforilaciji, glikolitičkom metabolizmu, sintezi proteina, kontrakciji miocita, vazodilataciji i ostalim procesima (Mieyal et al., 2008; Pimentel et al., 2012; Kumar et al., 2012). Stvaranje disulfidne veze uz reverzibilnu reakciju glutaciona sa tiolima proteina se odigrava pomoću procesa s-glutationilacije proteina. Sama reakcija S-glutationilacije nastaje delovanjem mnogobrojnih mehanizama, usled oksidativnog stresa (Zweier et al., 2011). S-glutationilacija proteina predstavlja krajnji produkt delovanja antioksidanasa i smanjuje ireverzibilne promene na proteinima (Marrocco et al., 2017). Na adekvatno funkcionisanje srčanih proteina bitan je odnos između glutacionilacije i fosforilacije, a S-glutationilacija utiče na fosfataze i/ili kinaze. Promene u nivou glutacionilacije proteina mogu uticati na pojavu mnogih kardiovaskularnih bolesti, poput kardijalne hipertrofije, ateroskleroze i MI (Pastore and Piemonte, 2013). Pomoću ovog vida posttranslacione modifikacije se mogu modulisati srčani proteini. Pregledom literature, vidi se da S-glutationilacija eNOS reverzibilno dovodi do odvajanja eNOS (Chen et al., 2010). Ove promene u eNOS mogu dovesti do hipertenzije usled gubitka relaksacije endotela. Angiotenzin II povećava produkciju ROS i aktivnost p21Ras, kao jedanog od

ključnih faktora u regulaciji signalizacije faktora rasta, i zajedno sa procesom S-glutationilacije posledično dovodi do kardijalne hipertrofije (Adachi et al., 2004).

U našem istraživanju primećen je povećan nivo S-glutationilacije u modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom kao i u grupi koja je tretirana fiziološkim rastvorom u ISO indukovanom MI, što je u skladu sa drugim istraživačima (Avner et al., 2012). Nisu registrovane značajne promene u nivou S-glutationilacije nakon aplikacije PK-11195 ili koaplikacija PK-11195 i L-NAME u našem istraživanju. Primena L-NAME ili 4'-CIDzp ili kotretman sa 4'-CIDzp i L-NAME, dovela je do statistički značajnog smanjenja nivoa S-glutationilacije u ISO indukovanom infarktu miokarda, što može ukazivati na njihov protektivni efekat i redoks regulaciju.

Histološkom analizom i bojenjem po metodi hematoksilin fosfotungstična kiselina (PTAH) je utvrđivano prisustvo i težina infarkta miokarda, sa korišćenom odgovarajućom gradacijom u skladu sa drugim autorima (Acikel et al., 2005; Lobo Filho et al., 2011). U grupi tretiranoj sa izoprenalinom primećen je u 80% slučajeva gradus 3 MI, a u 20% slučajeva gradus 2 MI, čime se potvrđuje pojava infarkta miokarda u poređenju sa kontrolnom grupom, a isti slučaj je i u grupi tretiranoj sa fiziološkim rastvorom i izoprenalinom, a u skladu sa drugim autorima (Lobo Filho et al., 2011; Zaki et al., 2018). U našem radu, koaplikacijom PK-11195 i L-NAME u 100% slučajeva primećen je gradus 2 MI, što ukazuje na protektivno dejstvo ovih supstanci, ali bez statističke značajnosti. Aplikacija PK-11195 je u modelu infarkta miokarda u 50% slučajeva imala gradus 1, u 25% slučajeva gradus 2 i 25% slučajeva gradus 3, no bez statistički značajne razlike u odnosu na grupu tretiranu sa fiziološkim rastvorom i izoprenalinom. Primena 4'-CIDzp je ispoljila značajno kardioprotektivno dejstvo, u 80% slučajeva nije utvrđeno prisustvo infarkta miokarda a samo u 20% slučajeva je utvrđen gradus 1 MI. Kardioprotektivno dejstvo 4'-CIDzp dobijeno u našem istraživanju je u skladu sa drugim autorima (Obame et al., 2007). Primena L-NAME nije značajno uticala na smanjenje infarktnog polja. U 75% slučajeva je utvrđen gradus 2 a u 25% gradus 3 MI. Koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME nije pokazala protektivno dejstvo. U 50% slučajeva je utvrđen gradus 2 a u ostalih 50% je utvrđen gradus 3 u poređenju sa aplikacijom 4'-CIDzp, što takođe ukazuje na kardioprotektivno dejstvo 4'-CIDzp.

Ishemijska bolest srca, posebno akutni infarkt miokarda, predstavlja jedan od vodećih uzroka smrti širom sveta. TSPO je protein koji ulazi u sastav mPTP i ima brojne antioksidativne, antiinflamatorne i kardioprotektivne uloge. Rezultati našeg istraživanja ukazuju na moguće protektivno dejstvo u MI. Od velikog interesa je dodatno istražiti moguće potencijalne mehanizme delovanja TSPO liganada u lečenju infarkta miokarda. Kako bismo preciznije razumeli mehanizme delovanja TSPO kao i ulogu TSPO liganada tokom infarkta miokarda, potrebno je da se kroz nova istraživanja ispituju efekti aplikacije različitih TSPO liganada, njihov uticaj na markere ishemije miokarda, parametre oksidativnog stresa i inflamacije, kao i njihovi efekti na histološkom nivou i uticaj na različite sisteme organa i samog organizma u celini.

6. Zaključci

Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1) Nakon primene izoprenalina i indukcije MI u odnosu na kontrolnu grupu:

- Registrovano je smanjenje telesne mase i povećanje KSI.
- Primena ISO je bila praćena povećanjem vrednosti hsTnT, smanjenjem vrednosti LDH i AST, a nije uticala na CK.
- Primena ISO je povećala vrednosti Hcy i FIB, i smanjila vrednosti TH, HDL i TG, a nije uticala na vWF.
- Koncentracija mokraćne kiseline, uree i kreatinina je nepromenjena nakon primene ISO.
- Registrovano je smanjenje nivoa aktivnosti hepatičnih enzima (ALT, ALP), dok na α -AMY nije uticala primena ISO.
- Registrovano je povećanje koncentracije albumina i smanjenje koncentracije ukupnih proteina.
- Vrednosti IL-1 β i IL-6 su nepromenjene, dok su vrednosti TNF- α povišene, a vrednosti IL-10 snižene nakon primene ISO.
- U homogenatu tkiva srca, parametri oksidativnog stresa (GPx, SOD, glutation) su nepromenjeni nakon primene ISO.
- Densitometrijska analiza pokazala je povišen nivo ukupne glutationilacije proteina u I grupi u poređenju sa grupom K.
- Histološki stepen oštećenja miokarda nakon primene ISO je imao 80% promena sa gradusom 3 i 20% promena sa gradusom 2, za razliku od kontrole gde je u 100% zabeležen gradus 0.

2) Nakon aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME kod ISO indukovano MI:

- Registrovano je značajno smanjenje telesne mase nakon aplikacije PK-11195 u odnosu na IFR, dok koaplikacija PK-11195 i L-NAME nije uticala na telesnu masu.
- Koaplikacija PK-11195 i L-NAME je značajno povećala KSI u odnosu na IP grupu.
- Aplikacija PK-11195 je značajno smanjila koncentraciju hsTnT u poređenju sa IFR grupom, dok je koaplikacija PK-11195 i L-NAME povećala koncentraciju hsTnT u odnosu na grupu IP i IFR.
- Aplikacija PK-11195 i koaplikacija PK-11195 i L-NAME nisu uticale na koncentraciju LDH i CK.
- Povećanje koncentracije AST je registrovano u grupi IPLN u odnosu na grupu IP.
- Značajno povećanje homocisteina je registrovano u grupi IP i IPLN u odnosu na grupu IFR.
- Registrovano je značajno povećanje TH i smanjenje HDL nakon aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u odnosu na grupu IFR.
- Koncentracija FIB je povećana u grupama IP i IPLN u odnosu na IFR, dok nije uočena značajna razlika u koncentraciji vWF između ovih grupa.
- Koaplikacija PK-11195 i L-NAME je značajno povećala vrednosti mokraćne kiseline u odnosu na grupu IP i IFR, dok aplikacija PK-11195 nije uticala na vrednosti mokraćne kiseline u odnosu na grupu IFR.
- Koncentracije uree su značajno snižene nakon aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME, dok su koncentracije kreatinina značajno povećane u grupi IPLN u odnosu na grupu IFR i IP.
- Nivo aktivnosti ALT je nepromenjen, dok je nivo aktivnosti ALP značajno povećan usled aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u odnosu na grupu IFR, a nivo aktivnosti α -AMY je značajno smanjen.

- Pokazano je smanjenje koncentracije ukupnih proteina usled aplikacije PK-11195 u odnosu na grupu IFR, a povećanje koncentracije proteina usled koaplikacije PK-11195 i L-NAME u odnosu na grupu IP.
 - Koncentracija albumina je smanjena u grupama IP i IPLN u odnosu na grupu IFR.
 - Smanjene vrednosti IL-1 β primećene su u grupi IP, a ostale su nepromenjene u grupi IPLN, u odnosu na grupu IFR.
 - Vrednosti TNF- α i IL-6 su smanjene u grupama IP i IPLN, dok su vrednosti IL-10 značajno povećane, u odnosu na grupu IFR.
 - Pokazano je da je u homogenatu srčanog tkiva smanjena aktivnost GPx nakon aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME, dok je koncentracija glutaiona nepromenjena, u odnosu na grupu IFR.
 - Aktivnost SOD je smanjena u grupi IP, a povećana u grupi IPLN u odnosu na grupu IFR.
 - Densitometrijska analiza nije pokazala promenjen nivo ukupne glutationilacije proteina u grupama IP i IPLN u odnosu na grupu IFR.
 - Histološkom analizom uzoraka tkiva srca nisu primećene statistički značajne razlike nakon aplikacije PK-11195 i koaplikacije PK-11195 i L-NAME u odnosu na grupu IFR.
- 3) Nakon aplikacije 4'-CIDzp ili L-NAME i koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME kod ISO indukovanoj MI:
- U grupama IC i ILN se uočava niža telesna masa, a KSI je viši u odnosu na IFR grupu.
 - U grupi ICLN telesna masa je viša u odnosu na IC grupu, i bez značajnog uticaja na KSI.
 - Primenom 4'-CIDzp je značajno smanjena vrednost hsTnT u odnosu na grupu I i grupu ILN, dok nije uticala na vrednosti LDH, CK i AST.
 - Primena L-NAME nije uticala na promene vrednosti hsTnT, LDH, CK i AST.
 - Koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME je povećala vrednosti hsTnT u odnosu na grupu IC, i povećala je vrednosti AST u odnosu na grupu I, ILN i IC, povećala je vrednosti LDH u odnosu na grupu ILN, dok na vrednosti CK nije uticala.
 - Vrednosti Hcy su značajno smanjene nakon primene 4'-CIDzp u odnosu na grupu I, a koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME je povećala vrednosti Hcy u odnosu na grupu IC, dok je vrednost Hcy ostala nepromenjena nakon primene L-NAME.
 - Nakon primene L-NAME značajno su povećane vrednosti TH u odnosu na grupu I, dok na vrednosti HDL i TG nije uticala.
 - Primena 4'-CIDzp je značajno povećala vrednosti TG u odnosu na grupu I, dok na vrednosti TH i HDL nije uticala.
 - Koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME je povećala vrednosti TH i TG, dok je smanjila vrednosti HDL u odnosu na sve ispitivane grupe.
 - Registrovane su povišene vrednosti FIB i WF nakon koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME, dok primena 4'-CIDzp ili L-NAME nije uticala na vrednosti FIB i vWF.
 - Na koncentraciju mokraćne kiseline nije uticala primena 4'-CIDzp ili L-NAME, dok je koaplikacija 4'-CIDzp i L-NAME povećala koncentraciju mokraćne kiseline.
 - Nakon koaplikacije 4'-CIDzp i L-NAME povećana je koncentracija uree u odnosu na grupu I i povećana je koncentracija kreatinina u odnosu na grupe I, IC i ILN.
 - Primenom 4'-CIDzp smanjena je koncentracija uree i kreatinina, dok nakon primene L-NAME nije primećena razlika u odnosu na grupu I.
 - Na markere hepatične funkcije ALT i ALP, koaplikacijom 4'-CIDzp i L-NAME su registrovane povećane vrednosti u odnosu na sve grupe, kao i nakon primene 4'-CIDzp u odnosu na I grupu.
 - Nakon primene L-NAME, registrovana je povećana vrednost ALT dok na ALP nije uticala u odnosu na I grupu.

6. Zaključci

- Koaplifikacijom 4'-CIDzp i L-NAME su registrovane smanjene vrednosti α -AMY, markera pankreatične funkcije, dok su nakon aplikacije 4'-CIDzp ili L-NAME povećane vrednosti ovog markera u odnosu na I grupu.
- Koaplifikacijom 4'-CIDzp i L-NAME su registrovane smanjene vrednosti UP i ALB u odnosu na I i ILN grupe, dok su aplikacijom 4'-CIDzp ili L-NAME vrednosti ostale nepromenjene.
- Primena 4'-CIDzp ili L-NAME nije uticala na vrednosti IL-1 β , IL-6 i IL-10, dok je koaplifikacija 4'-CIDzp i L-NAME smanjila vrednosti IL-1 β i TNF- α i povećala vrednosti IL-10, u odnosu na sve grupe, a vrednost IL-6 je ostala nepromenjena.
- Nakon primene 4'-CIDzp registrovana je smanjena vrednosti TNF- α u odnosu na I grupu.
- U homogenatu srčanog tkiva primena 4'-CIDzp ili L-NAME, kao i koaplifikacija 4'-CIDzp i L-NAME, je smanjila aktivnost GPx, a primena 4'-CIDzp ili L-NAME je smanjila i aktivnost SOD, dok je vrednost glutaciona ostala nepromenjena.
- Densitometrijskom analizom pokazani su značajno smanjeni nivoi ukupne glutacionilacije proteina nakon primene 4'-CIDzp ili L-NAME, kao nakon koaplifikacije 4'-CIDzp i L-NAME.
- Histološki stepen oštećenja miokarda je u 80% slučajeva gradus 0 nakon primene 4'-CIDzp, a u 20% slučajeva registrovan je gradus 1.
- Nakon koaplifikacije 4'-CIDzp i L-NAME, zabeleženo je u 50% slučajeva gradus 2 i u 50% slučajeva gradus 3 MI u odnosu na grupu IC.

7. Literatura

- Abbate A, Kontos MC, Grizzard JD, Biondi-Zoccai GG, Van Tassell BW, Robati R, et al. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study). *Am J Cardiol.* 2010;105(10):1371-7 e1.
- Abbate A, Toldo S, Marchetti C, Kron J, Van Tassell BW, Dinarello CA. Interleukin-1 and the inflammasome as therapeutic targets in cardiovascular disease. *Circ Res.* 2020;126(9):1260-80.
- Abbate A, Van Tassell BW, Biondi-Zoccai G, Kontos MC, Grizzard JD, Spillman DW, et al. Effects of interleukin-1 blockade with anakinra on adverse cardiac remodeling and heart failure after acute myocardial infarction [from the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial (2) (VCU-ART2) pilot study]. *Am J Cardiol.* 2013;111(10):1394-400.
- Abdelzaher WY, Ahmed SM, Welson NN, Alsharif KF, Batiha GE, 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.
- 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.
- Acikel M, Buyukokuroglu ME, Erdogan F, Aksoy H, Bozkurt E, Senocak H. Protective effects of dantrolene against myocardial injury induced by isoproterenol in rats: biochemical and histological findings. *Int J Cardiol.* 2005;98(3):389-94.
- Adachi T, Pimentel DR, Heibeck T, Hou X, Lee YJ, Jiang B, et al. S-glutathiolation of Ras mediates redox-sensitive signaling by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 2004;279(28):29857-62.
- Adams JE, 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation.* 1993;88(2):750-63.
- Adamy C, Le Corvoisier P, Candiani G, Kirsch M, Pavoine C, Defer N, et al. Tumor necrosis factor alpha and glutathione interplay in chronic heart failure. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2005;98(9):906-12.
- 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.
- Ahmad S, Mahmood T, Kumar R, Bagga P, Ahsan F, Shamim A, et al. Comparative evaluation of cardioprotective activity of Gala and Fuji apple juice against isoprenaline-induced cardiotoxicity in rats. *J Complement Integr Med.* 2021;19(1):27-36.
- Ahmed LA, Hassan OF, Galal O, Mansour DF, El-Khatib A. Beneficial effects of benfotiamine, a NADPH oxidase inhibitor, in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *PLoS One.* 2020;15(5):e0232413.
- Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ Res.* 2007;100(2):158-73.
- Al-Delaimy WK, Merchant AT, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Effect of type 2 diabetes and its duration on the risk of peripheral arterial disease among men. *Am J Med.* 2004;116(4):236-40.
- Allan P, Uitte de Willige S, Abou-Saleh RH, Connell SD, Ariens RA. Evidence that fibrinogen gamma' directly interferes with protofibril growth: Implications for fibrin structure and clot stiffness. *J Thromb Haemost.* 2012;10(6):1072-80.
- Allijn IE, Czarny BMS, Wang X, Chong SY, Weiler M, da Silva AE, et al. Liposome encapsulated berberine treatment attenuates cardiac dysfunction after myocardial infarction. *J Control Release.* 2017;247:127-33.
- Almdal T, Scharling H, Jensen JS, Vestergaard H. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up. *Arch Intern Med.* 2004;164(13):1422-6.

- Altschuld RA, Hohl CM, Castillo LC, Garleb AA, Starling RC, Brierley GP. Cyclosporin inhibits mitochondrial calcium efflux in isolated adult rat ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol.* 1992;262(6 Pt 2):H1699-704.
- Aman U, Vaibhav P, Balaraman R. Tomato lycopene attenuates myocardial infarction induced by isoproterenol: electrocardiographic, biochemical and anti-apoptotic study. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(5):345-51.
- Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(10):1731-7.
- Anandan R, Ganesan B, Obulesu T, Mathew S, Kumar RS, Lakshmanan PT, et al. Dietary chitosan supplementation attenuates isoprenaline-induced oxidative stress in rat myocardium. *Int J Biol Macromol.* 2012;51(5):783-7.
- Andersson C, Vasan RS. Epidemiology of cardiovascular disease in young individuals. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(4):230-40.
- Anholt RR, Pedersen PL, De Souza EB, Snyder SH. The peripheral-type benzodiazepine receptor. Localization to the mitochondrial outer membrane. *J Biol Chem.* 1986;261(2):576-83.
- Ansari MA, Iqbal A, Ekbbal R, Haque SE. Effects of nimodipine, vinpocetine and their combination on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Biomed Pharmacother.* 2019;109:1372-80.
- Anzai T. Inflammatory mechanisms of cardiovascular remodeling. *Circ J.* 2018;82(3):629-35.
- Armstrong PW, Gershlick AH, Goldstein P, Wilcox R, Danays T, Lambert Y, et al. Fibrinolysis or primary PCI in ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2013;368(15):1379-87.
- Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al. 2019 ACC/AHA guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2019;140(11):e596-e646.
- Arnout J, Meijer P, Vermeylen J. Lupus anticoagulant testing in Europe: an analysis of results from the first European concerted action on thrombophilia (ECAT) survey using plasmas spiked with monoclonal antibodies against human beta2-glycoprotein I. *Thromb Haemost.* 1999;81(6):929-34.
- Aronson D, Hammerman H, Beyar R, Yalonetsky S, Kapeliovich M, Markiewicz W, et al. Serum blood urea nitrogen and long-term mortality in acute ST-elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2008;127(3):380-5.
- Asmat U, Abad K, Ismail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J.* 2016;24(5):547-53.
- Authors/Task Force M, Guidelines ESCCfP, Societies ESCNC. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 2019;290:140-205.
- Avner BS, Shioura KM, Scruggs SB, Grachoff M, Geenen DL, Helseth DL, Jr., et al. Myocardial infarction in mice alters sarcomeric function via post-translational protein modification. *Mol Cell Biochem.* 2012;363(1-2):203-15.
- Bagatini MD, Martins CC, Battisti V, Gasparetto D, da Rosa CS, Spanevello RM, et al. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels.* 2011;26(1):55-63.
- Baines CP, Molckentin JD. Adenine nucleotide translocase-1 induces cardiomyocyte death through upregulation of the pro-apoptotic protein Bax. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;46(6):969-77.
- 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).
- Baptista G, Dupuy AM, Jaussent A, Durant R, Ventura E, Sauguet P, et al. Low-grade chronic inflammation and superoxide anion production by NADPH oxidase are the main determinants of physical frailty in older adults. *Free Radic Res.* 2012;46(9):1108-14.

- Barbour JA, Turner N. Mitochondrial stress signaling promotes cellular adaptations. *Int J Cell Biol.* 2014;2014:156020.
- Barger AC, Beeuwkes R, 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1984;310(3):175-7.
- Barroso M, Kao D, Blom HJ, Tavares de Almeida I, Castro R, Loscalzo J, et al. S-adenosylhomocysteine induces inflammation through NFkB: A possible role for EZH2 in endothelial cell activation. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(1):82-92.
- Becker T, Wagner R. Mitochondrial outer membrane channels: emerging diversity in transport processes. *Bioessays.* 2018;40(7):e1800013.
- Benz R. Permeation of hydrophilic solutes through mitochondrial outer membranes: review on mitochondrial porins. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1197(2):167-96.
- Beregovich J, Reicher-Reiss H, Grishman A. Haemodynamic effects of isoprenaline in acute myocardial infarction. *Br Heart J.* 1972;34(7):705-10.
- Berlaimont V, Billiow JM, Brohet C, Dupont AG, Gazagnes MD, Heller F, et al. Lessons from ONTARGET. *Acta Clin Belg.* 2008;63(3):142-51
- Berroteran-Infante N, Tadic M, Hacker M, Wadsak W, Mitterhauser M. Binding affinity of some endogenous and synthetic TSPO ligands regarding the rs6971 polymorphism. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3).
- Bird JL, Izquierdo-Garcia D, Davies JR, Rudd JH, Probst KC, Figg N, et al. Evaluation of translocator protein quantification as a tool for characterising macrophage burden in human carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2010;210(2):388-91.
- Biswas L, Farhan F, Reilly J, Bartholomew C, Shu X. TSPO Ligands promote cholesterol efflux and suppress oxidative stress and inflammation in choroidal endothelial cells. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12).
- Bloch MJ, Basile JN. In angiotensin-converting enzyme inhibitor-intolerant individuals, the angiotensin receptor blocker telmisartan does not reduce the incidence of major cardiovascular events in high-risk patients: lessons learned from the Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-Intolerant Subjects With Cardiovascular Disease (TRANSCEND). *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2008;10(11):876-80.
- Bloom S, Cancilla PA. Myocytolysis and mitochondrial calcification in rat myocardium after low doses of isoproterenol. *Am J Pathol.* 1969;54(3):373-91.
- Bloom S, Davis DL. Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. *Am J Pathol.* 1972;69(3):459-70.
- Blumgart HL, Zoll PM, et al. The experimental production of intercoronary arterial anastomoses and their functional significance. *Circulation.* 1950;1(1):10-27, pl.
- Bodor GS, Survant L, Voss EM, Smith S, Porterfield D, Apple FS. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clin Chem.* 1997;43(3):476-84.
- Boger RH, Lentz SR, Bode-Boger SM, Knapp HR, Haynes WG. Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin Sci (Lond).* 2001;100(2):161-7.
- Bojic MG, Todorovic L, Santrac A, Mian MY, Sharmin D, Cook JM, et al. Vasodilatory effects of a variety of positive allosteric modulators of GABA(A) receptors on rat thoracic aorta. *Eur J Pharmacol.* 2021;899:174023.
- Bolger GT, Abraham S, Oz N, Weissman BA. Interactions between peripheral-type benzodiazepine receptor ligands and an activator of voltage-operated calcium channels. *Can J Physiol Pharmacol.* 1990;68(1):40-5.
- Bolukoglu H, Liedtke AJ, Nellis SH, Eggleston AM, Subramanian R, Renstrom B. An animal model of chronic coronary stenosis resulting in hibernating myocardium. *Am J Physiol.* 1992;263(1 Pt 2):H20-9.
- Bonomini F, Tengattini S, Fabiano A, Bianchi R, Rezzani R. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histol Histopathol.* 2008;23(3):381-90.

- Bonsack F, Sukumari-Ramesh S. TSPO: an evolutionarily conserved protein with elusive functions. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6).
- Bonthu S, Heistad DD, Chappell DA, Lamping KG, Faraci FM. Atherosclerosis, vascular remodeling, and impairment of endothelium-dependent relaxation in genetically altered hyperlipidemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):2333-40.
- Borowczyk K, Piechocka J, Glowacki R, Dhar I, Midtun O, Tell GS, et al. Urinary excretion of homocysteine thiolactone and the risk of acute myocardial infarction in coronary artery disease patients: the WENBIT trial. *J Intern Med.* 2019;285(2):232-44.
- Bos MJ, Koudstaal PJ, Hofman A, Wittteman JC, Breteler MM. Uric acid is a risk factor for myocardial infarction and stroke: the Rotterdam study. *Stroke.* 2006;37(6):1503-7.
- Brady NR, Hamacher-Brady A, Westerhoff HV, Gottlieb RA. A wave of reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release in a sea of excitable mitochondria. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8(9-10):1651-65.
- Braestrup C, Squires RF. Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity (3H)diazepam binding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74(9):3805-9.
- Brody AL, Okita K, Shieh J, Liang L, Hubert R, Mamoun M, et al. Radiation dosimetry and biodistribution of the translocator protein radiotracer [(11C)DAA1106 determined with PET/CT in healthy human volunteers. *Nucl Med Biol.* 2014;41(10):871-5.
- Brooks WW, Conrad CH. Isoproterenol-induced myocardial injury and diastolic dysfunction in mice: structural and functional correlates. *Comp Med.* 2009;59(4):339-43.
- Bround MJ, Bers DM, Molkentin JD. A 20/20 view of ANT function in mitochondrial biology and necrotic cell death. *J Mol Cell Cardiol.* 2020;144:A3-A13.
- Brown DA, Aon MA, Akar FG, Liu T, Sorraín N, O'Rourke B. Effects of 4'-chlorodiazepam on cellular excitation-contraction coupling and ischaemia-reperfusion injury in rabbit heart. *Cardiovasc Res.* 2008;79(1):141-9.
- Brown DA, Aon MA, Frasier CR, Sloan RC, Maloney AH, Anderson EJ, et al. Cardiac arrhythmias induced by glutathione oxidation can be inhibited by preventing mitochondrial depolarization. *J Mol Cell Cardiol.* 2010;48(4):673-9.
- Brustovetsky N, Klingenberg M. The reconstituted ADP/ATP carrier can mediate H⁺ transport by free fatty acids, which is further stimulated by mersalyl. *J Biol Chem.* 1994;269(44):27329-36.
- Bugger H, Pfeil K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020;1866(7):165768.
- Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2023;44(38):3720-826.
- Cakir E, Turan IO. Lactate/albumin ratio is more effective than lactate or albumin alone in predicting clinical outcomes in intensive care patients with sepsis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2021;81(3):225-9.
- Cantor WJ, Fitchett D, Borgundvaag B, Ducas J, Heffernan M, Cohen EA, et al. Routine early angioplasty after fibrinolysis for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2009;360(26):2705-18.
- Casellas P, Galiegue S, Basile AS. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function. *Neurochem Int.* 2002;40(6):475-86.
- Casini A, Undas A, Palla R, Thachil J, de Moerloose P, Subcommittee on Factor X, et al. Diagnosis and classification of congenital fibrinogen disorders: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2018;16(9):1887-90.
- Chapman AR, Shah ASV, Lee KK, Anand A, Francis O, Adamson P, et al. Long-term outcomes in patients with type 2 myocardial infarction and myocardial injury. *Circulation.* 2018;137(12):1236-45.
- Charge SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev.* 2004;84(1):209-38.
- Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49(3):481-93.

- Chen CA, Wang TY, Varadharaj S, Reyes LA, Hemann C, Talukder MA, et al. S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function. *Nature*. 2010;468(7327):1115-8.
- Cheng G, Zhang J, Jia S, Feng P, Chang F, Yan L, et al. Cardioprotective Effect of Gossypin Against Myocardial Ischemic/Reperfusion in Rats via Alteration of Oxidative Stress, Inflammation and Gut Microbiota. *J Inflamm Res*. 2022;15:1637-51.
- Chen Y, Wu L, Liu J, Ma L, Zhang W. Adenine nucleotide translocase: Current knowledge in post-translational modifications, regulations and pathological implications for human diseases. *FASEB J*. 2023;37(6):e22953.
- Ghigo A, Franco I, Morello F, Hirsch E. Myocyte signalling in leucocyte recruitment to the heart. *Cardiovasc Res*. 2014;102(2):270-80.
- Chinopoulos C, Konrad C, Kiss G, Metelkin E, Torocsik B, Zhang SF, et al. Modulation of F0F1-ATP synthase activity by cyclophilin D regulates matrix adenine nucleotide levels. *FEBS J*. 2011;278(7):1112-25.
- Chion CK, Doggen CJ, Crawley JT, Lane DA, Rosendaal FR. ADAMTS13 and von Willebrand factor and the risk of myocardial infarction in men. *Blood*. 2007;109(5):1998-2000.
- Cinar I, Yayla M, Tavaci T, Toktay E, Ugan RA, Bayram P, et al. *In vivo* and *in vitro* cardioprotective effect of Gossypin against isoproterenol-induced myocardial infarction injury. *Cardiovasc Toxicol*. 2022;22(1):52-62.
- Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev*. 2020;40(1):158-89.
- Ciszek B, Skubiszewska D, Ratajska A. The anatomy of the cardiac veins in mice. *J Anat*. 2007;211(1):53-63.
- Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC, et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med*. 2009;361(26):2518-28.
- Clift MJ, Gehr P, Rothen-Rutishauser B. Nanotoxicology: a perspective and discussion of whether or not *in vitro* testing is a valid alternative. *Arch Toxicol*. 2011;85(7):723-31.
- Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthelémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, et al. 2020 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2021;42(14):1289-367.
- Cotter G, Kaluski E, Milo O, Blatt A, Salah A, Hendler A, et al. LINCOS: L-NAME (a NO synthase inhibitor) in the treatment of refractory cardiogenic shock: a prospective randomized study. *Eur Heart J*. 2003;24(14):1287-95.
- Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure? *Circ Res*. 2001;89(3):201-10.
- Criqui MH, Aboyans V. Epidemiology of peripheral artery disease. *Circ Res*. 2015;116(9):1509-26.
- Cung TT, Morel O, Cayla G, Rioufol G, Garcia-Dorado D, Angoulvant D, et al. Cyclosporine before PCI in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2015;373(11):1021-31.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329(1-2):23-38.
- DALYs GBD, Collaborators H, Murray CJ, Barber RM, Foreman KJ, Abbasoglu Ozgoren A, et al. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 306 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 188 countries, 1990-2013: quantifying the epidemiological transition. *Lancet*. 2015;386(10009):2145-91.
- Davie C, Pierre-Valentin J, Pollard C, Standen N, Mitcheson J, Alexander P, et al. Comparative pharmacology of guinea pig cardiac myocyte and cloned hERG (I(Kr)) channel. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2004;15(11):1302-9.
- Davies LP, Huston V. Peripheral benzodiazepine binding sites in heart and their interaction with dipyridamole. *Eur J Pharmacol*. 1981;73(2-3):209-11.
- Davies MJ. Stability and instability: Two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation*. 1996;94(8):2013-20.

- Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring--the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J*. 1985;53(4):363-73.
- De Caterina R, Libby P. Endothelial dysfunctions and vascular disease. 2007;Oxford: Blackwell Futura.
- de Gouveia NM, Rodrigues WF, de Sousa RMF, Calabria LK, Mundim AV, Miguel CB, et al. Phytochemical characterization of the *Vochysia rufa* (Vochysiaceae) extract and its effects on oxidative stress in the pancreata of streptozotocin-induced diabetic rats. *PLoS One*. 2017;12(10):e0184807.
- de Leiris J, Harding DP, Pestre S. The isolated perfused rat heart: a model for studying myocardial hypoxia or ischaemia. *Basic Res Cardiol*. 1984;79(3):313-21.
- De Marchi E, Bonora M, Giorgi C, Pinton P. The mitochondrial permeability transition pore is a dispensable element for mitochondrial calcium efflux. *Cell Calcium*. 2014;56(1):1-13.
- De Meyer SF, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. von Willebrand factor to the rescue. *Blood*. 2009;113(21):5049-57.
- De Pinto V, Guarino F, Guarnera A, Messina A, Reina S, Tomasello FM, et al. Characterization of human VDAC isoforms: a peculiar function for VDAC3? *Biochim Biophys Acta*. 2010;1797(6-7):1268-75.
- da Silva RC, Polegato BF, Azevedo PS, Fernandes AA, Okoshi K, de Paiva SAR, et al. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) Attenuates Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(2).
- De Stefani D, Raffaello A, Teardo E, Szabo I, Rizzuto R. A forty-kilodalton protein of the inner membrane is the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*. 2011;476(7360):336-40.
- de Tassigny A, Assaly R, Schaller S, Pruss RM, Berdeaux A, Morin D. Mitochondrial translocator protein (TSPO) ligands prevent doxorubicin-induced mechanical dysfunction and cell death in isolated cardiomyocytes. *Mitochondrion*. 2013;13(6):688-97.
- de Winter RJ, Bholasingh R, Lijmer JG, Koster RW, Gorgels JP, Schouten Y, et al. Independent prognostic value of C-reactive protein and troponin I in patients with unstable angina or non-Q-wave myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 1999;42(1):240-5.
- Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95.
- Degirmenci I, Kalender S, Ustuner MC, Kalender Y, Gunes HV, Unal N, et al. The effects of acarbose and *Rumex patientia* on liver ultrastructure in streptozotocin-induced diabetic (type II) rats. *Drugs Exp Clin Res*. 2002;28(6):229-34.
- Deten A, Zimmer HG. Heart function and cytokine expression is similar in mice and rats after myocardial infarction but differences occur in TNF alpha expression. *Pflugers Arch*. 2002;445(2):289-96.
- Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens*. 2000;18(6):655-73.
- Dib N, Diethrich EB, Campbell A, Gahremanpour A, McGarry M, Opie SR. A percutaneous swine model of myocardial infarction. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2006;53(3):256-63.
- Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018;281(1):8-27.
- Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-8.
- Djuric D, Jakovljevic V, Zivkovic V, Srejovic I. Homocysteine and homocysteine-related compounds: an overview of the roles in the pathology of the cardiovascular and nervous systems. *Can J Physiol Pharmacol*. 2018;96(10):991-1003.
- Doehner W, von Haehling S, Anker SD. Uric acid as a prognostic marker in acute heart failure--new expectations from an old molecule. *Eur J Heart Fail*. 2007;9(5):437-9.
- Dogne JM, Rolin S, Petein M, Tchana-Sato V, Ghuysen A, Lambermont B, et al. Characterization of an original model of myocardial infarction provoked by coronary artery thrombosis induced by ferric chloride in pig. *Thromb Res*. 2005;116(5):431-42.

- Drent M, Cobben NA, Henderson RF, Wouters EF, van Dieijen-Visser M. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J*. 1996;9(8):1736-42.
- Duggan JP, Peters AS, Trachiotis GD, Antevil JL. Epidemiology of coronary artery disease. *Surg Clin North Am*. 2022;102(3):499-516.
- Ebihara Y, Karmazyn M. Inhibition of beta- but not alpha 1-mediated adrenergic responses in isolated hearts and cardiomyocytes by nitric oxide and 8-bromo cyclic GMP. *Cardiovasc Res*. 1996;32(3):622-9.
- Eckel RH, York DA, Rossner S, Hubbard V, Caterson I, St Jeor ST, et al. Prevention conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: executive summary. *Circulation*. 2004;110(18):2968-75.
- Eltzhig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med*. 2011;17(11):1391-401.
- Everett BM, Cornel JH, Lainscak M, Anker SD, Abbate A, Thuren T, et al. Anti-inflammatory therapy with canakinumab for the prevention of hospitalization for heart failure. *Circulation*. 2019;139(10):1289-99.
- Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC. Dual role of tumor necrosis factor-alpha in angiogenesis. *Am J Pathol*. 1992;140(3):539-44.
- Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47(8 Suppl):C7-12.
- Fan J, Rone MB, Papadopoulos V. Translocator protein 2 is involved in cholesterol redistribution during erythropoiesis. *J Biol Chem*. 2009;284(44):30484-97.
- Fan J, Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathol Int*. 2022;72(3):151-60.
- Fares F, Weizman A, Zlotogorski D, Gavish M. Ontogenetic development of peripheral benzodiazepine binding sites in rat brain, heart and lung. *Brain Res*. 1987;408(1-2):381-4.
- Farquharson CA, Butler R, Hill A, Belch JJ, Struthers AD. Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure. *Circulation*. 2002;106(2):221-6.
- Fathiazad F, Matlobi A, Khorrami A, Hamedeyazdan S, Soraya H, Hammami M, et al. Phytochemical screening and evaluation of cardioprotective activity of ethanolic extract of *Ocimum basilicum* L. (basil) against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Daru*. 2012;20(1):87.
- Fazel R, Joseph TI, Sankardas MA, Pinto DS, Yeh RW, Kumbhani DJ, et al. Comparison of reperfusion strategies for ST-segment-elevation myocardial infarction: a multivariate network meta-analysis. *J Am Heart Assoc*. 2020;9(12):e015186.
- Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2008;359(17):1811-21.
- Feng Q, Lu X, Jones DL, Shen J, Arnold JM. Increased inducible nitric oxide synthase expression contributes to myocardial dysfunction and higher mortality after myocardial infarction in mice. *Circulation*. 2001;104(6):700-4.
- Fibrinogen Studies C, Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA*. 2005;294(14):1799-809.
- Fiore C, Trezeguet V, Le Saux A, Roux P, Schwimmer C, Dianoux AC, et al. The mitochondrial ADP/ATP carrier: structural, physiological and pathological aspects. *Biochimie*. 1998;80(2):137-50.
- 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.
- Forrester JS, Diamond G, Chatterjee K, Swan HJ. Medical therapy of acute myocardial infarction by application of hemodynamic subsets (first of two parts). *N Engl J Med*. 1976;295(24):1356-62.
- Fosbol EL, Granger CB, Jollis JG, Monk L, Lin L, Lytle BL, et al. The impact of a statewide pre-hospital STEMI strategy to bypass hospitals without percutaneous coronary intervention capability on treatment times. *Circulation*. 2013;127(5):604-12.

- Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002;53(1):31-47.
- Fuentes E, Moore-Carrasco R, de Andrade Paes AM, Trostchansky A. Role of platelet activation and oxidative stress in the evolution of myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2019;24(6):509-20.
- Fujimura Y, Hwang PM, Trout Iii H, Kozloff L, Imaizumi M, Innis RB, et al. Increased peripheral benzodiazepine receptors in arterial plaque of patients with atherosclerosis: an autoradiographic study with [(3)H]PK 11195. *Atherosclerosis.* 2008;201(1):108-11.
- Fukai T, Folz RJ, Landmesser U, Harrison DG. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2002;55(2):239-49.
- Gaemperli O, Shalhoub J, Owen DR, Lamare F, Johansson S, Fouladi N, et al. Imaging intraplaque inflammation in carotid atherosclerosis with 11C-PK11195 positron emission tomography/computed tomography. *Eur Heart J.* 2012;33(15):1902-10.
- Gan M, Zhang S, Fan Y, Tan Y, Guo Z, Chen L, et al. The expression of microRNA in adult rat heart with isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. *Cells.* 2020;9(5).
- Ganesan B, Buddhan S, Anandan R, Sivakumar R, AnbinEzhilan R. Antioxidant defense of betaine against isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *Mol Biol Rep.* 2010;37(3):1319-27.
- Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJ, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet.* 2013;382(9889):339-52.
- Gao Z, Xiong J, Chen Z, Deng X, Xu Z, Sun A, et al. Gender differences of morphological and hemodynamic characteristics of abdominal aortic aneurysm. *Biol Sex Differ.* 2020;11(1):41.
- Gaziano L, Sun L, Arnold M, Bell S, Cho K, Kaptoge SK, et al. Mild-to-moderate kidney dysfunction and cardiovascular disease: observational and mendelian randomization analyses. *Circulation.* 2022;146(20):1507-17.
- Gehlert DR, Yamamura HI, Wamsley JK. Autoradiographic localization of "peripheral-type" benzodiazepine binding sites in the rat brain, heart and kidney. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1985;328(4):454-60.
- Geng ZH, Huang L, Song MB, Song YM. Protective effect of a polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza* on isoproterenol (ISO)-induced myocardial injury in rats. *Carbohydr Polym.* 2015;132:638-42.
- Genova ML, Lenaz G. Functional role of mitochondrial respiratory supercomplexes. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1837(4):427-43.
- Gershlick AH, Stephens-Lloyd A, Hughes S, Abrams KR, Stevens SE, Uren NG, et al. Rescue angioplasty after failed thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2005;353(26):2758-68.
- Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA.* 2001;286(4):421-6.
- Ghazouani L, Khdhiri E, Elmufti A, Feriani A, Tir M, Baaziz I, et al. Cardioprotective effects of (E)-4-hydroxy-N'-(1-(3-oxo-3H-benzo[f]chromen-2-yl)ethylidene)benzohydrazide: a newly synthesized coumarin hydrazone against isoproterenol-induced myocardial infarction in a rat model. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(10):989-98.
- Gimbrone MA, editor *Endothelial Dysfunction and the Pathogenesis of Atherosclerosis* 1980; New York, NY: Springer US.
- Gimenes R, Gimenes C, Rosa CM, Xavier NP, Campos DHS, Fernandes AAH, et al. Influence of apocynin on cardiac remodeling in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2018;17(1):15.
- Giorgio V, Soriano ME, Basso E, Bisetto E, Lippe G, Forte MA, et al. Cyclophilin D in mitochondrial pathophysiology. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1797(6-7):1113-8.

- Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316(22):1371-5.
- Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell*. 2001;104(4):503-16.
- Gojković Bukarica Lj, Kazić T. Jonski kanali i kanalopatije. U: Kačić T, Ostojić M. Klinička kardiovaskularna farmakologija. 4. izd. Beograd: Inegra, 2004: 37-58.
- Gopcevic K, Rovcanin B, Kekic D, Radenkovic S. Matrix metalloproteinases and membrane damage markers in sera of patients with acute myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*. 2011;350(1-2):163-8.
- Gosling P, Hughes EA, Reynolds TM, Fox JP. Microalbuminuria is an early response following acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 1991;12(4):508-13.
- Graham A. Mitochondrial regulation of macrophage cholesterol homeostasis. *Free Radic Biol Med*. 2015;89:982-92.
- Griffiths HR, Aldred S, Dale C, Nakano E, Kitas GD, Grant MG, et al. Homocysteine from endothelial cells promotes LDL nitration and scavenger receptor uptake. *Free Radic Biol Med*. 2006;40(3):488-500.
- Gross PL, Aird WC. The endothelium and thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(5):463-78.
- Gunzler WA, Kremers H, Flohe L. An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1-11-1-9-) in blood. *Z Klin Chem Klin Biochem*. 1974;12(10):444-8.
- Gupta P, Kanwal A, Putcha UK, Bulani Y, Sojitra B, Khatua TN, et al. Cardioprotective effect of ritonavir, an antiviral drug, in isoproterenol induced myocardial necrosis: a new therapeutic implication. *J Transl Med*. 2013;11:80.
- Hagar HH. Folic acid and vitamin B(12) supplementation attenuates isoprenaline-induced myocardial infarction in experimental hyperhomocysteinemic rats. *Pharmacol Res*. 2002;46(3):213-19.
- Halestrap AP. The mitochondrial permeability transition: its molecular mechanism and role in reperfusion injury. *Biochem Soc Symp*. 1999;66:181-203.
- Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine* 3rd ed., New York: Oxford University Press, Oxford 1999; 140-84.
- Halliwell B, Kaur H, Ingelman-Sundberg M. Hydroxylation of salicylate as an assay for hydroxyl radicals: a cautionary note, *Free Radic Biol Med* 1991; 10(6): 439-41.
- 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. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020;6(1):31.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet*. 1999;354(9176):407-13.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352(16):1685-95.
- 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):14459.
- Haque K, Bhargava P. Abdominal aortic aneurysm. *Am Fam Physician*. 2022;106(2):165-72.
- Hayyan M, Hashim MA, AlNashef IM. Superoxide ion: Generation and chemical implications. *Chem Rev*. 2016;116(5):3029-85.
- Headrick JP, Gauthier NS, Morrison RR, Matherne GP. Chronotropic and vasodilatory responses to adenosine and isoproterenol in mouse heart: Effects of adenosine A1 receptor overexpression. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000;27(3):185-90.
- Heather LC, Catchpole AF, Stuckey DJ, Cole MA, Carr CA, Clarke K. Isoproterenol induces *in vivo* functional and metabolic abnormalities: Similar to those found in the infarcted rat heart. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(3):31-9.

- Hegstad AC, Ytrehus K, Myklebust R, Jorgensen L. Ultrastructural changes in the myocardial myocytic mitochondria: Crucial step in the development of oxygen radical-induced damage in isolated rat hearts? *Basic Res Cardiol.* 1994;89(2):128-38.
- Hein TW, Zhang C, Wang W, Chang CI, Thengchaisri N, Kuo L. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: Counteracting role of arginase. *FASEB J.* 2003;17(15):2328-30.
- Hessel MH, Michielsen EC, Atsma DE, Schalij MJ, van der Valk EJ, Bax WH, et al. Release kinetics of intact and degraded troponin I and T after irreversible cell damage. *Exp Mol Pathol.* 2008;85(2):90-5.
- Hickey NC, Shearman CP, Gosling P, Simms MH. Assessment of intermittent claudication by quantitation of exercise-induced microalbuminuria. *Eur J Vasc Surg.* 1990;4(6):603-6.
- Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, et al. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation.* 2002;106(14):1777-82.
- Hoffmann U, Brady TJ, Muller J. Cardiology patient page. Use of new imaging techniques to screen for coronary artery disease. *Circulation.* 2003;108(8):e50-3.
- Hollestelle MJ, Donkor C, Mantey EA, Chakravorty SJ, Craig A, Akoto AO, et al. von Willebrand factor propeptide in malaria: evidence of acute endothelial cell activation. *Br J Haematol.* 2006;133(5):562-9.
- Horiuchi M, Tsutsui M, Tasaki H, Morishita T, Suda O, Nakata S, et al. Upregulation of vascular extracellular superoxide dismutase in patients with acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(1):106-11.
- Huang S, Guo N, Duan X, Zhou Q, Zhang Z, Luo L, et al. Association between the blood urea nitrogen to creatinine ratio and in-hospital mortality among patients with acute myocardial infarction: A retrospective cohort study. *Exp Ther Med.* 2023;25(1):36.
- Huang X, Liu Y, Zhong C, Lin Z, Zheng B. Association between serum albumin-to-creatinine ratio and clinical outcomes among patients with ST-elevation myocardial infarction after percutaneous coronary intervention: a secondary analysis based on Dryad databases. *Front Cardiovasc Med.* 2023;10:1191167.
- Hughes GC, Post MJ, Simons M, Annex BH. Translational physiology: porcine models of human coronary artery disease: implications for preclinical trials of therapeutic angiogenesis. *J Appl Physiol (1985).* 2003;94(5):1689-701.
- Ibanez B, Fuster V. CANTOS: A Gigantic proof-of-concept trial. *Circ Res.* 2017;121(12):1320-2.
- Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2018;39(2):119-77.
- Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(2):145-69.
- Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis C, Swerdlow DI, Holmes MV, Kuchenbaecker KB, Engmann JE, Shah T, et al. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet.* 2012;379(9822):1214-24.
- Jaipersad AS, Lip GY, Silverman S, Shantsila E. The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63(1):1-11.
- Jaiswal A, Kumar S, Enjamoori R, Seth S, Dinda AK, Maulik SK. Peripheral benzodiazepine receptor ligand Ro5-4864 inhibits isoprenaline-induced cardiac hypertrophy in rats. *Eur J Pharmacol.* 2010;644(1-3):146-53.
- Jakubowski H. Homocysteine modification in protein structure/function and human disease. *Physiol Rev.* 2019;99(1):555-604.

- James ML, Selleri S, Kassiou M. Development of ligands for the peripheral benzodiazepine receptor. *Curr Med Chem*. 2006;13(17):1991-2001.
- Javadov S, Jang S, Parodi-Rullan R, Khuchua Z, Kuznetsov AV. Mitochondrial permeability transition in cardiac ischemia-reperfusion: whether cyclophilin D is a viable target for cardioprotection? *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(15):2795-813.
- Javadov S, Karmazyn M, Escobales N. Mitochondrial permeability transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;330(3):670-8.
- Jawien J, Nastalek P, Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol*. 2004;55(3):503-17.
- Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the obesity society. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(25 Pt B):2985-3023.
- Jeremic J, Nikolic Turnic T, Zivkovic V, Jeremic N, Milosavljevic I, Srejovic I, et al. Vitamin B complex mitigates cardiac dysfunction in high-methionine diet-induced hyperhomocysteinemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2018;45(7):683-93.
- Jghef MM, Boukholda K, Chtourou Y, Fiebich BL, Kebieche M, Soulimani R, et al. Punicalagin attenuates myocardial oxidative damage, inflammation, and apoptosis in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: Biochemical, immunohistochemical, and in silico molecular docking studies. *Chem Biol Interact*. 2023;385:110745.
- Jiang XH, Wu QQ, Xiao Y, Yuan Y, Yang Z, Bian ZY, et al. Evodiamine prevents isoproterenol-induced cardiac fibrosis by regulating endothelial-to-mesenchymal transition. *Planta Med*. 2017;83(9):761-9.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*. 2005;4:5.
- Johns TN, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. I. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg*. 1954;140(5):675-82.
- Jujo K, Minami Y, Haruki S, Matsue Y, Shimazaki K, Kadowaki H, et al. Persistent high blood urea nitrogen level is associated with increased risk of cardiovascular events in patients with acute heart failure. *ESC Heart Fail*. 2017;4(4):545-53.
- Kanjuh V, Stevanovic G, Ostojic M, Stankovic Z, Dimitrijevic J, Kanjuh S. Rudolf Virchow (1821-1902) and his influence on the development of pathologic anatomy in Serbia. *Vojnosanit Pregl*. 2002;59(6 Suppl):11-9.
- Kannan MM, Quine SD. Ellagic acid ameliorates isoproterenol induced oxidative stress: Evidence from electrocardiological, biochemical and histological study. *Eur J Pharmacol*. 2011;659(1):45-52.
- Kannan MM, Quine SD. Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. *Metabolism*. 2013;62(1):52-61.
- Kannel WB, McGee DL. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study. *Diabetes Care*. 1979;2(2):120-6.
- Kappert K, Bohm M, Schmieder R, Schumacher H, Teo K, Yusuf S, et al. Impact of sex on cardiovascular outcome in patients at high cardiovascular risk: analysis of the telmisartan randomized assessment study in ACE-intolerant subjects with cardiovascular disease (TRANSCEND) and the ongoing telmisartan alone and in combination with ramipril global end point trial (ONTARGET). *Circulation*. 2012;126(8):934-41.
- Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014;35(9):578-89.
- Kareem A, Gs S, Shaik A, Kodidala LD. Effect of aqueous extract of nutmeg on hyperglycaemia, hyperlipidaemia and cardiac histology associated with isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research (ISSN: 1596-5996) Vol 8 Num 4*. 2009;8.

- Keith RJ, Al Rifai M, Carruba C, De Jarnett N, McEvoy JW, Bhatnagar A, et al. Tobacco use, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes: Results from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157592.
- Kelsey MD, Nelson AJ, Green JB, Granger CB, Peterson ED, McGuire DK, et al. Guidelines for Cardiovascular Risk Reduction in Patients With Type 2 Diabetes: JACC Guideline Comparison. *J Am Coll Cardiol*. 2022;79(18):1849-57.
- Kelton JG, Blajchman MA. Prostaglandin I₂ (prostacyclin). *Can Med Assoc J*. 1980;122(2):175-9.
- 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.
- Khan AA, Allemailem KS, Alhumaydhi FA, Gowder SJT, Rahmani AH. The biochemical and clinical perspectives of lactate dehydrogenase: an enzyme of active metabolism. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2020;20(6):855-68.
- Khan MA, Hashim MJ, Mustafa H, Baniyas MY, Al Suwaidi S, AlKatheeri R, et al. Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus*. 2020;12(7):e9349.
- Khimji AK, Rockey DC. Endothelin--biology and disease. *Cell Signal*. 2010;22(11):1615-25.
- Killip T, 3rd, Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol*. 1967;20(4):457-64.
- Kirtane AJ, Leder DM, Waikar SS, Chertow GM, Ray KK, Pinto DS, et al. Serum blood urea nitrogen as an independent marker of subsequent mortality among patients with acute coronary syndromes and normal to mildly reduced glomerular filtration rates. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(11):1781-6.
- Kishore R, Tkebuchava T, Sasi SP, Silver M, Gilbert HY, Yoon YS, et al. Tumor necrosis factor-alpha signaling via TNFR1/p55 is deleterious whereas TNFR2/p75 signaling is protective in adult infarct myocardium. *Adv Exp Med Biol*. 2011;691:433-48.
- Kleveland O, Kunszt G, Bratlie M, Ueland T, Broch K, Holte E, et al. Effect of a single dose of the interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab on inflammation and troponin T release in patients with non-ST-elevation myocardial infarction: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase 2 trial. *Eur Heart J*. 2016;37(30):2406-13.
- Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*. 1994;298 (Pt 2)(Pt 2):249-58.
- Koklesova L, Mazurakova A, Samec M, Biringer K, Samuel SM, Busselberg D, et al. Homocysteine metabolism as the target for predictive medical approach, disease prevention, prognosis, and treatments tailored to the person. *EPMA J*. 2021;12(4):477-505.
- Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med*. 2003;349(24):2316-25.
- Kologrivova I, Shtatolkina M, Suslova T, Ryabov V. Cells of the immune system in cardiac remodeling: main players in resolution of inflammation and repair after myocardial infarction. *Front Immunol*. 2021;12:664457.
- Koning MM, Krams R, Xiao CS, van Meegen JR, Bezstarosti K, Lamers JM, et al. Intracoronary trimetazidine does not improve recovery of regional function in a porcine model of repeated ischemia. *Cardiovasc Drugs Ther*. 1993;7(5):801-7.
- Kostic S, Micovic Z, Andrejevic L, Cvetkovic S, Stamenkovic A, Stankovic S, et al. The effects of L-cysteine and N-acetyl-L-cysteine on homocysteine metabolism and haemostatic markers, and on cardiac and aortic histology in subchronically methionine-treated Wistar male rats. *Mol Cell Biochem*. 2019;451(1-2):43-54.
- Koutroumpakis E, Wu BU, Bakker OJ, Dudekula A, Singh VK, Besselink MG, et al. Admission hematocrit and rise in blood urea nitrogen at 24 h outperform other laboratory markers in predicting persistent organ failure and pancreatic necrosis in acute pancreatitis: a post hoc analysis of three large prospective databases. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(12):1707-16.

- Kren L, Meluzin J, Pavlovsky Z, Mayer J, Kala P, Groch L, et al. Experimental model of myocardial infarction: Histopathology and reperfusion damage revisited. *Pathol Res Pract*. 2010;206(9):647-50.
- 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.
- Kumar Rajagopal S, Manickam P, Periyasamy V, Namasivayam N. Activity of *Cassia auriculata* leaf extract in rats with alcoholic liver injury. *J Nutr Biochem*. 2003;14(8):452-8.
- Kumar V, Calamaras TD, Haeussler D, Colucci WS, Cohen RA, McComb ME, et al. Cardiovascular redox and ox stress proteomics. *Antioxid Redox Signal*. 2012;17(11):1528-59.
- 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.
- Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2000;102(11):1221-6.
- Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R, Welgus HG, Dayer JM. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest*. 1995;96(5):2304-10.
- Laitinen I, Marjamaki P, Nagren K, Laine VJ, Wilson I, Leppanen P, et al. Uptake of inflammatory cell marker [¹¹C]PK11195 into mouse atherosclerotic plaques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36(1):73-80.
- Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation*. 2002;106(24):3073-8.
- Lang H, Wurzburg U. Creatine kinase, an enzyme of many forms. *Clin Chem*. 1982;28(7):1439-47.
- Latchman DS. Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovasc Res*. 2001;51(4):637-46.
- Lazo-de-la-Vega-Monroy M-L, Fernandez-Mej C. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role Of Vitamins with Antioxidant Actions. 2013.
- Lazzarino G, Raatikainen P, Nuutinen M, Nissinen J, Tavazzi B, Di Pierro D, et al. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery. *Circulation*. 1994;90(1):291-7.
- Le Fur G, Perrier ML, Vaucher N, Imbault F, Flamier A, Benavides J, et al. Peripheral benzodiazepine binding sites: effect of PK 11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide. I. *In vitro* studies. *Life Sci*. 1983;32(16):1839-47.
- Leppanen P, Luoma JS, Hofker MH, Havekes LM, Yla-Herttuala S. Characterization of atherosclerotic lesions in apo E3-leiden transgenic mice. *Atherosclerosis*. 1998;136(1):147-52.
- Li J, Thangaiyan R, Govindasamy K, Wei J. Anti-inflammatory and anti-apoptotic effect of zingiberene on isoproterenol-induced myocardial infarction in experimental animals. *Hum Exp Toxicol*. 2021;40(6):915-27.
- Li J, Wang J, Zeng Y. Peripheral benzodiazepine receptor ligand, PK11195 induces mitochondria cytochrome c release and dissipation of mitochondria potential via induction of mitochondria permeability transition. *Eur J Pharmacol*. 2007;560(2-3):117-22.
- Li JJ, Li Q, Du HP, Wang YL, You SJ, Wang F, et al. Homocysteine triggers inflammatory responses in macrophages through inhibiting CSE-H₂S signaling via DNA hypermethylation of CSE promoter. *Int J Mol Sci*. 2015;16(6):12560-77.
- Li L, Chen W, Rezvan A, Jo H, Harrison DG. Tetrahydrobiopterin deficiency and nitric oxide synthase uncoupling contribute to atherosclerosis induced by disturbed flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(7):1547-54.
- Li L, Zhang LK, Pang YZ, Pan CS, Qi YF, Chen L, et al. Cardioprotective effects of ghrelin and des-octanoyl ghrelin on myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *Acta Pharmacol Sin*. 2006;27(5):527-35.

- Li M, Mandal A, Tyurin VA, DeLucia M, Ahn J, Kagan VE, et al. Surface-binding to cardiolipin nanodomains triggers cytochrome c pro-apoptotic peroxidase activity via localized dynamics. *structure*. 2019;27(5):806-15 e4.
- Li YF, Nanayakkara G, Sun Y, Li X, Wang L, Cueto R, et al. Analyses of caspase-1-regulated transcriptomes in various tissues lead to identification of novel IL-1beta-, IL-18- and sirtuin-1-independent pathways. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):40.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420(6917):868-74.
- Libby P, Aikawa M. New insights into plaque stabilisation by lipid lowering. *Drugs*. 1998;56 Suppl 1:9-13; discussion 33.
- Lichtig C, Brooks H, Chassagne G, Glagov S, Wissler RW. Basic fuchsin picric acid method to detect acute myocardial ischemia. An experimental study in swine. *Arch Pathol*. 1975;99(3):158-61.
- Lin XL, Sun HX, Li FQ, Zhao JY, Zhao DH, Liu JH, et al. Admission high-sensitivity C-reactive protein levels improve the Grace risk score prediction on in-hospital outcomes in acute myocardial infarction patients. *Clin Cardiol*. 2022;45(3):282-90.
- Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin L. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. *Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease*. *N Engl J Med*. 2000;343(16):1139-47.
- Lippi G, Targher G, Franchini M, Plebani M. Genetic and biochemical heterogeneity of cardiac troponins: clinical and laboratory implications. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(10):1183-94.
- Liu J, Sun LL, Wang J, Ji G. Blood urea nitrogen in the prediction of in-hospital mortality of patients with acute aortic dissection. *Cardiol J*. 2018;25(3):371-6.
- Liu Y, Gutterman DD. Oxidative stress and potassium channel function. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29(4):305-11.
- Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, et al. Executive summary: Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2010;121(7):948-54.
- Lobo Filho HG, Ferreira NL, Sousa RB, Carvalho ER, Lobo PL, Lobo Filho JG. Experimental model of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2011;26(3):469-76.
- Lobo RO, Shenoy CK. Myocardial potency of Bio-tea against Isoproterenol induced myocardial damage in rats. *J Food Sci Technol*. 2015;52(7):4491-8.
- Lofthus DM, Stevens SR, Armstrong PW, Granger CB, Mahaffey KW. Pattern of liver enzyme elevations in acute ST-elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis*. 2012;23(1):22-30.
- Lovely RS, Falls LA, Al-Mondhiry HA, Chambers CE, Sexton GJ, Ni H, et al. Association of gammaA/gamma' fibrinogen levels and coronary artery disease. *Thromb Haemost*. 2002;88(1):26-31.
- Lucas ML, Rhoden CR, Rhoden EL, Zettler CG, Mattos AA. Effects of L-arginine and L-NAME on ischemia-reperfusion in rat liver. *Acta Cir Bras*. 2015;30(5):345-52.
- MacCarthy PA, Shah AM. Impaired endothelium-dependent regulation of ventricular relaxation in pressure-overload cardiac hypertrophy. *Circulation*. 2000;101(15):1854-60.
- Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383(9921):999-1008.
- Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, Muller C, Giannitsis E, Huber K, et al. How is cardiac troponin released from injured myocardium? *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018;7(6):553-60.
- Mann DL. Stress activated cytokines and the heart. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1996;7(4):341-54.
- Mannucci PM. von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(9):1359-62.
- Maria-Luisa L-d-I-V-M, Cristina F-M. Oxidative stress in diabetes mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. In: José AM-G, editor. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases*. Rijeka: IntechOpen; 2013. p. Ch. 9.

- Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:6501046.
- Maruhashi T, Hisatome I, Kihara Y, Higashi Y. Hyperuricemia and endothelial function: From molecular background to clinical perspectives. *Atherosclerosis*. 2018;278:226-31.
- Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 1999;32(8):595-603.
- Matsushita K, Ballew SH, Wang AY, Kalyesubula R, Schaeffner E, Agarwal R. Epidemiology and risk of cardiovascular disease in populations with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2022;18(11):696-707.
- Matte C, Mackedanz V, Stefanello FM, Scherer EB, Andrezza AC, Zanotto C, et al. Chronic hyperhomocysteinemia alters antioxidant defenses and increases DNA damage in brain and blood of rats: protective effect of folic acid. *Neurochem Int*. 2009;54(1):7-13.
- Maulik SK, Kumar S. Oxidative stress and cardiac hypertrophy: a review. *Toxicol Mech Methods*. 2012;22(5):359-66.
- Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 1987;21(10):737-46.
- McCarty S, Frishman W. Interleukin 1beta: a proinflammatory target for preventing atherosclerotic heart disease. *Cardiol Rev*. 2014;22(4):176-81.
- McCullough PA, Jurkovic CT, Pergola PE, McGill JB, Brown WW, Collins AJ, et al. Independent components of chronic kidney disease as a cardiovascular risk state: Results from the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Arch Intern Med*. 2007;167(11):1122-9.
- McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: Historical perspectives. *Clin Chem Lab Med*. 2005;43(10):980-6.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1969;56(1):111-28.
- McDonald LJ, Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP signaling. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1996;211(1):1-6.
- McEnery MW, Snowman AM, Trifiletti RR, Snyder SH. Isolation of the mitochondrial benzodiazepine receptor: Association with the voltage-dependent anion channel and the adenine nucleotide carrier. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(8):3170-4.
- McLeish MJ, Kenyon GL. Relating structure to mechanism in creatine kinase. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2005;40(1):1-20.
- McNeela AM, Bernick C, Hines RM, Hines DJ. TSPO regulation in reactive gliotic diseases. *J Neurosci Res*. 2018;96(6):978-88.
- Meigs JB. Epidemiology of type 2 diabetes and cardiovascular disease: Translation from population to prevention: the Kelly West award lecture 2009. *Diabetes Care*. 2010;33(8):1865-71.
- Meijler FL. Atrioventricular conduction versus heart size from mouse to whale. *J Am Coll Cardiol*. 1985;5(2 Pt 1):363-5.
- Mercer KA, Weizman R, Gavish M. Ontogenesis of peripheral benzodiazepine receptors: Demonstration of selective up-regulation in rat testis as a function of maturation. *J Recept Res*. 1992;12(4):413-25.
- Mi X, Zhang Z, Cheng J, Xu Z, Zhu K, Ren Y. Cardioprotective effects of Schisantherin A against isoproterenol-induced acute myocardial infarction through amelioration of oxidative stress and inflammation via modulation of PI3K-AKT/Nrf2/ARE and TLR4/MAPK/NF-kappaB pathways in rats. *BMC Complement Med Ther*. 2023;23(1):277.
- Mielal JJ, Gallogly MM, Qanungo S, Sabens EA, Shelton MD. Molecular mechanisms and clinical implications of reversible protein S-glutathionylation. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(11):1941-88.
- Miller YI, Chang MK, Binder CJ, Shaw PX, Witztum JL. Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(5):437-45.

- Mingels AM, Mills NL, Mueller C. Cardiac troponin T and I: Back to basics. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2023;12(9):631-2.
- Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972;247(10):3170-5.
- Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R, Tuteja N. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. *Med Sci Monit*. 2009;15(10):RA209-19.
- Miura K, Daviglius ML, Dyer AR, Liu K, Garside DB, Stamler J, et al. Relationship of blood pressure to 25-year mortality due to coronary heart disease, cardiovascular diseases, and all causes in young adult men: the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Arch Intern Med*. 2001;161(12):1501-8.
- Mohamed ME, Abduldaium MS, Younis NS. Cardioprotective Effect of Linalool against Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction. *Life (Basel)*. 2021;11(2).
- Mohanty I, Arya DS, Dinda A, Talwar KK, Joshi S, Gupta SK. Mechanisms of cardioprotective effect of *Withania somnifera* in experimentally induced myocardial infarction. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004;94(4):184-90.
- Morciano G, Naumova N, Koprowski P, Valente S, Sardao VA, Potes Y, et al. The mitochondrial permeability transition pore: an evolving concept critical for cell life and death. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2021;96(6):2489-521.
- Morin D, Musman J, Pons S, Berdeaux A, Ghaleh B. Mitochondrial translocator protein (TSPO): From physiology to cardioprotection. *Biochem Pharmacol*. 2016;105:1-13.
- Morisue A, Wakabayashi G, Shimazu M, Tanabe M, Mukai M, Matsumoto K, et al. The role of nitric oxide after a short period of liver ischemia-reperfusion. *J Surg Res*. 2003;109(2):101-9.
- Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis. *J Cardiol*. 2019;73(1):22-7.
- Morrison AM, Sullivan AE, Aday AW. Atherosclerotic disease: Pathogenesis and approaches to management. *Med Clin North Am*. 2023;107(5):793-805.
- Motloch LJ, Hu J, Akar FG. The mitochondrial translocator protein and arrhythmogenesis in ischemic heart disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:234104.
- Mueller C. Biomarkers and acute coronary syndromes: an update. *Eur Heart J*. 2014;35(9):552-6.
- Murabito JM, Pencina MJ, Nam BH, D'Agostino RB, Sr., Wang TJ, Lloyd-Jones D, et al. Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA*. 2005;294(24):3117-23.
- Murad F. Cellular signaling with nitric oxide and cyclic GMP. *Braz J Med Biol Res*. 1999;32(11):1317-27.
- Murugesan M, Rangunath M, Prabu T, Nadanasabapathi S, Sakthivel M, Manju V. Protective Role of Black Cumin (*Nigella sativa*) on Isoproterenol Induced Myocardial Infarction in Rats. *International Journal of Pharmacology and Clinical Sciences*. 2012;1(2).
- Mutavdzin S, Gopcevic K, Stankovic S, Jakovljevic Uzelac J, Labudovic Borovic M, Djuric D. The effect of folic acid administration on cardiac tissue matrix metalloproteinase activity and hepatorenal biomarkers in diabetic rats (1). *Can J Physiol Pharmacol*. 2019;97(9):893-901.
- 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.
- Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: From basic science to medicine. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3(Suppl 3):S233-42.
- Naslund U, Haggmark S, Johansson G, Marklund SL, Reiz S. A closed-chest myocardial occlusion-reperfusion model in the pig: Techniques, morbidity and mortality. *Eur Heart J*. 1992;13(9):1282-9.
- Nestelberger T, Boeddinghaus J, Badertscher P, Twerenbold R, Wildi K, Breitenbacher D, et al. Effect of definition on incidence and prognosis of type 2 myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(13):1558-68.
- Neumann JT, Sorensen NA, Rubsamen N, Ojeda F, Renne T, Qaderi V, et al. Discrimination of patients with type 2 myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2017;38(47):3514-20.

- Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res*. 2004;94(12):1543-53.
- Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: Epidemiological update. *Eur Heart J*. 2014;35(42):2950-9.
- Nilsson L, Szymanski A, Swahn E, Jonasson L. Soluble TNF receptors are associated with infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction. *PLoS One*. 2013;8(2):e55477.
- 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.
- Obame FN, Zini R, Souktani R, Berdeaux A, Morin D. Peripheral benzodiazepine receptor-induced myocardial protection is mediated by inhibition of mitochondrial membrane permeabilization. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;323(1):336-45.
- Olson JM, Ciliax BJ, Mancini WR, Young AB. Presence of peripheral-type benzodiazepine binding sites on human erythrocyte membranes. *Eur J Pharmacol*. 1988;152(1-2):47-53.
- Omran AR. The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. 1971. *Milbank Q*. 2005;83(4):731-57.
- Ontarget Investigators. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(15):1547-59.
- Oprescu N, Micheu MM, Scafa-Udriste A, Popa-Fotea NM, Dorobantu M. Inflammatory markers in acute myocardial infarction and the correlation with the severity of coronary heart disease. *Ann Med*. 2021;53(1):1041-7.
- Osterud B, Bjorklid E. Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol Rev*. 2003;83(4):1069-112.
- Otaki Y, Gransar H, Berman DS, Cheng VY, Dey D, Lin FY, et al. Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am J Cardiol*. 2013;111(8):1081-6.
- Ouyang B, Li Z, Ji X, Huang J, Zhang H, Jiang C. The protective role of lutein on isoproterenol-induced cardiac failure rat model through improving cardiac morphology, antioxidant status via positively regulating Nrf2/HO-1 signalling pathway. *Pharm Biol*. 2019;57(1):529-35.
- Palade GE. The fine structure of mitochondria. *Anat Rec*. 1952;114(3):427-51.
- Pan B, Jin X, Jun L, Qiu S, Zheng Q, Pan M. The relationship between smoking and stroke: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(12):e14872.
- Panteghini M. Aspartate aminotransferase isoenzymes. *Clin Biochem*. 1990;23(4):311-9.
- Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, Knudsen TB, Lacapere JJ, Lindemann P, et al. Translocator protein (18kDa): New nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(8):402-9.
- Paradis S, Leoni V, Caccia C, Berdeaux A, Morin D. Cardioprotection by the TSPO ligand 4'-chlorodiazepam is associated with inhibition of mitochondrial accumulation of cholesterol at reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2013;98(3):420-7.
- Park JG, Oh GT. The role of peroxidases in the pathogenesis of atherosclerosis. *BMB Rep*. 2011;44(8):497-505.
- Pasterkamp G, Schoneveld AH, van der Wal AC, Haudenschild CC, Clarijs RJ, Becker AE, et al. Relation of arterial geometry to luminal narrowing and histologic markers for plaque vulnerability: the remodeling paradox. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32(3):655-62.
- Pastore A, Piemonte F. Protein glutathionylation in cardiovascular diseases. *Int J Mol Sci*. 2013;14(10):20845-76.
- Patel J, Al Rifai M, Scheuner MT, Shea S, Blumenthal RS, Nasir K, et al. Basic vs More complex definitions of family history in the prediction of coronary heart disease: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Mayo Clin Proc*. 2018;93(9):1213-23.

- Patel SA, Winkel M, Ali MK, Narayan KM, Mehta NK. Cardiovascular mortality associated with 5 leading risk factors: national and state preventable fractions estimated from survey data. *Ann Intern Med.* 2015;163(4):245-53.
- Pearson JD. Endothelial cell biology. *Radiology.* 1991;179(1):9-14.
- Pearson JD. Endothelial cell function and thrombosis. *Baillieres Clin Haematol.* 1994;7(3):441-52.
- Pencina KM, Thanassoulis G, Wilkins JT, Vasani RS, Navar AM, Peterson ED, et al. Trajectories of non-hdl cholesterol across midlife: Implications for cardiovascular prevention. *J Am Coll Cardiol.* 2019;74(1):70-9.
- 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.
- Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* 1992;38(10):1933-53.
- Peyvandi F, Garagiola I, Baronciani L. Role of von Willebrand factor in the haemostasis. *Blood Transfus.* 2011;9 Suppl 2(Suppl 2):s3-8.
- Pimentel D, Haeussler DJ, Matsui R, Burgoyne JR, Cohen RA, Bachschmid MM. Regulation of cell physiology and pathology by protein S-glutathionylation: lessons learned from the cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal.* 2012;16(6):524-42.
- Pletcher MJ, Tice JA, Pignone M, Browner WS. Using the coronary artery calcium score to predict coronary heart disease events: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2004;164(12):1285-92.
- Pluijmer 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.
- Prabhu SD, Frangogiannis NG. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: From inflammation to fibrosis. *Circ Res.* 2016;119(1):91-112.
- Protasoni M, Zeviani M. Mitochondrial Structure and Bioenergetics in Normal and Disease Conditions. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2).
- Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology.* 2005;6(1):71-5.
- Radhakrishnan J, Bazarek S, Chandran B, Gazmuri RJ. Cyclophilin-D: a resident regulator of mitochondrial gene expression. *FASEB J.* 2015;29(7):2734-48.
- Rajadurai M, Prince PS. Preventive effect of naringin on isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: an *in vivo* and *in vitro* study. *Toxicology.* 2007;232(3):216-25.
- Rajadurai M, Stanely Mainzen Prince P. Preventive effect of naringin on lipid peroxides and antioxidants in isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: biochemical and histopathological evidences. *Toxicology.* 2006;228(2-3):259-68.
- Ramachandra CJA, Hernandez-Resendiz S, Crespo-Avilan GE, Lin YH, Hausenloy DJ. Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection. *EBioMedicine.* 2020;57:102884.
- Recchia FA, Lionetti V. Animal models of dilated cardiomyopathy for translational research. *Vet Res Commun.* 2007;31 Suppl 1:35-41.
- Ren L, Guo J, Zhao W, Zuo R, Guo S, Jia C, et al. Serum homocysteine relates to elevated lipid level, inflammation and major adverse cardiac event risk in acute myocardial infarction patients. *Biomark Med.* 2023;17(6):297-306.
- Rhoney DH, Parker D, Jr., Millis SR, Whittaker P. Kidney dysfunction at the time of intracerebral hemorrhage is associated with increased in-hospital mortality: a retrospective observational cohort study. *Neurol Res.* 2012;34(5):518-21.
- Rich PR, Marechal A. The mitochondrial respiratory chain. *Essays Biochem.* 2010;47:1-23.
- Richard E, Gallego-Villar L, Rivera-Barahona A, Oyarzabal A, Perez B, Rodriguez-Pombo P, et al. Altered redox homeostasis in branched-chain amino acid disorders, organic acidurias, and homocystinuria. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:1246069.
- Ridker PM. How common is residual inflammatory risk? *Circ Res.* 2017;120(4):617-9.

- Ridker PM, Libby P, MacFadyen JG, Thuren T, Ballantyne C, Fonseca F, et al. Modulation of the interleukin-6 signalling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: analyses from the Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Eur Heart J*. 2018;39(38):3499-507.
- Ridker PM, Rane M. Interleukin-6 signaling and anti-interleukin-6 therapeutics in cardiovascular disease. *Circ Res*. 2021;128(11):1728-46.
- Rodwell VW, Murray RK. Biochemistry & Medicine. In: Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA, editors. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 31e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018.
- Roest M, Banga JD, Janssen WM, Grobbee DE, Sixma JJ, de Jong PE, et al. Excessive urinary albumin levels are associated with future cardiovascular mortality in postmenopausal women. *Circulation*. 2001;103(25):3057-61.
- Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016;37(3):267-315.
- Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Lopez-Anaya A, et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation*. 1999;99(23):3063-70.
- Roh JS, Sohn DH. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune Netw*. 2018;18(4):e27.
- Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol*. 1985;17(4):291-306.
- Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008;117(4):e25-146.
- Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*. 1973;180(4093):1332-9.
- Rubini Gimenez M, Reiter M, Twerenbold R, Reichlin T, Wildi K, Haaf P, et al. Sex-specific chest pain characteristics in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *JAMA Intern Med*. 2014;174(2):241-9.
- Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, Baghai TC, Fan J, Akula N, et al. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(12):971-88.
- Saito Y, Tanaka A, Node K, Kobayashi Y. Uric acid and cardiovascular disease: A clinical review. *J Cardiol*. 2021;78(1):51-7.
- Sakai H, Goto S, Kim JY, Aoki N, Abe S, Ichikawa N, et al. Plasma concentration of von Willebrand factor in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*. 2000;84(2):204-9.
- Salazar AE. Experimental myocardial infarction. Induction of coronary thrombosis in the intact closed-chest dog. *Circ Res*. 1961;9:1351-6.
- Sallie R, Tredger JM, Williams R. Drugs and the liver. Part 1: Testing liver function. *Biopharm Drug Dispos*. 1991;12(4):251-9.
- Sam F, Sawyer DB, Xie Z, Chang DL, Ngoy S, Brenner DA, et al. Mice lacking inducible nitric oxide synthase have improved left ventricular contractile function and reduced apoptotic cell death late after myocardial infarction. *Circ Res*. 2001;89(4):351-6.
- Sampasa-Kanyinga H, Lewis RF. Frequent Use of social networking sites is associated with poor psychological functioning among children and adolescents. *Cyberpsychol Behav Soc Netw*. 2015;18(7):380-5.
- Samsky MD, Morrow DA, Proudfoot AG, Hochman JS, Thiele H, Rao SV. Cardiogenic shock after acute myocardial infarction: a review. *JAMA*. 2021;326(18):1840-50.

- Santucci R, Sinibaldi F, Cozza P, Polticelli F, Fiorucci L. Cytochrome c: an extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *Int J Biol Macromol.* 2019;136:1237-46.
- Sawyer PN, Pate JW, Weldon CS. Relations of abnormal and injury electric potential differences to intravascular thrombosis. *Am J Physiol.* 1953;175(1):108-12.
- Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, Crowe TD, Nissen SE, Tuzcu EM. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes : an intravascular ultrasound study. *Circulation.* 2000;101(6):598-603.
- Schulze F, Lenzen H, Hanefeld C, Bartling A, Osterziel KJ, Goudeva L, et al. Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: results from the multicenter coronary artery risk determination investigating the influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. *Am Heart J.* 2006;152(3):493 e1-8.
- Senaratne MP, Griffiths J, Nagendran J. Elevation of plasma homocysteine levels associated with acute myocardial infarction. *Clin Invest Med.* 2000;23(4):220-6.
- Seidlmayer LK, Hanson BJ, Thai PN, Schaefer S, Bers DM, Dedkova EN. PK11195 Protects From Cell Death Only When Applied During Reperfusion: Succinate-Mediated Mechanism of Action. *Front Physiol.* 2021;12:628508.
- Senthil Kumaran K, Stanely Mainzen Prince P. Protective effects of caffeic acid on lactate dehydrogenase isoenzymes, electrocardiogram, adenosine triphosphatases, and hematology on isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2011;25(2):60-7.
- Sessa WC, Harrison JK, Barber CM, Zeng D, Durieux ME, D'Angelo DD, et al. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide synthase. *J Biol Chem.* 1992;267(22):15274-6.
- Sesso HD, Lee IM, Gaziano JM, Rexrode KM, Glynn RJ, Buring JE. Maternal and paternal history of myocardial infarction and risk of cardiovascular disease in men and women. *Circulation.* 2001;104(4):393-8.
- Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail.* 1996;2(3):243-9.
- Sezer M, Aslanger E, Cakir O, Atici A, Sezer I, Ozcan A, et al. The interplay between features of plaque vulnerability and hemodynamic relevance of coronary artery stenoses. *Cardiology.* 2021;146(1):1-10.
- Shah AM, MacCarthy PA. Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function. *Pharmacol Ther.* 2000;86(1):49-86.
- Shahzad S, Mateen S, Mubeena Mariyath PM, Naeem SS, Akhtar K, Rizvi W, et al. Protective effect of syringaldehyde on biomolecular oxidation, inflammation and histopathological alterations in isoproterenol induced cardiotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:625-33.
- Sharkey SW, Apple FS, Elspeger KJ, Tilbury RT, Miller S, Fjeldos K, et al. Early peak of creatine kinase-MB in acute myocardial infarction with a non-diagnostic electrocardiogram. *Am Heart J.* 1988;116(5 Pt 1):1207-11.
- Sharma S, Iqbal A, Khan V, Sharma K, Najmi AK, Haque SE. Icariin ameliorates oxidative stress-induced inflammation, apoptosis, and heart failure in isoproterenol-challenged Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(5):517-25.
- Sharmila Queenthly S, Stanely Mainzen Prince P, John B. Diosmin prevents isoproterenol-induced heart mitochondrial oxidative stress in rats. *Cardiovasc Toxicol.* 2018;18(2):120-30.
- Shin J, Hwang SY, Jo IJ, Kim WY, Ryoo SM, Kang GH, et al. Prognostic value of the lactate/albumin ratio for predicting 28-day mortality in critically ill sepsis patients. *Shock.* 2018;50(5):545-50.
- 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.
- Shizukuda Y, Buttrick PM, Geenen DL, Borczuk AC, Kitsis RN, Sonnenblick EH. beta-adrenergic stimulation causes cardiocyte apoptosis: influence of tachycardia and hypertrophy. *Am J Physiol.* 1998;275(3):H961-8.

- Shoshan-Barmatz V, De Pinto V, Zweckstetter M, Raviv Z, Keinan N, Arbel N. VDAC, a multi-functional mitochondrial protein regulating cell life and death. *Mol Aspects Med.* 2010;31(3):227-85.
- Shoshan-Barmatz V, Golan M. Mitochondrial VDAC1: Function in cell life and death and a target for cancer therapy. *Curr Med Chem.* 2012;19(5):714-35.
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;91(3C):31S-8S.
- Singer DE, Nathan DM, Anderson KM, Wilson PW, Evans JC. Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes.* 1992;41(2):202-8.
- Song L, Srilakshmi M, Wu Y, Saleem TSM. Sulforaphane Attenuates Isoproterenol-Induced Myocardial Injury in Mice. *Biomed Res Int.* 2020;2020:3610285.
- Spinale FG, Coker ML, Thomas CV, Walker JD, Mukherjee R, Hebbar L. Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function. *Circ Res.* 1998;82(4):482-95.
- Steinberg D, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation.* 1997;95(4):1062-71.
- Suchal K, Malik S, Gamad N, Malhotra RK, Goyal SN, Bhatia J, et al. Kampeferol protects against oxidative stress and apoptotic damage in experimental model of isoproterenol-induced cardiac toxicity in rats. *Phytomedicine.* 2016;23(12):1401-8.
- 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.
- Sugino H, Shimada H. Effect of isoproterenol on renal uric acid excretion in rats. *Jpn J Pharmacol.* 1987;45(3):343-8.
- Suleiman M, Khatib R, Agmon Y, Mahamid R, Boulos M, Kapeliovich M, et al. Early inflammation and risk of long-term development of heart failure and mortality in survivors of acute myocardial infarction predictive role of C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(5):962-8.
- Sun J, Han W, Wu S, Jia S, Yan Z, Guo Y, et al. Associations between hyperhomocysteinemia and the presence and severity of acute coronary syndrome in young adults ≤ 35 years of age. *BMC Cardiovasc Disord.* 2021;21(1):47.
- Surinkaew S, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Roles of mitochondrial benzodiazepine receptor in the heart. *Can J Cardiol.* 2011;27(2):262 e3 -13.
- Szabo I, Zoratti M. The giant channel of the inner mitochondrial membrane is inhibited by cyclosporin A. *J Biol Chem.* 1991;266(6):3376-9.
- Taddei S, Virdis A, Mattei P, Ghiadoni L, Sudano I, Arrighi P, et al. Lack of correlation between microalbuminuria and endothelial function in essential hypertensive patients. *J Hypertens.* 1995;13(9):1003-8.
- Takahara S, Ferdaoussi M, Srnic N, Maayah ZH, Soni S, Migglautsch AK, et al. Inhibition of ATGL in adipose tissue ameliorates isoproterenol-induced cardiac remodeling by reducing adipose tissue inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2021;320(1):H432-H46.
- Tang YN, He XC, Ye M, Huang H, Chen HL, Peng WL, et al. Cardioprotective effect of total saponins from three medicinal species of *Dioscorea* against isoprenaline-induced myocardial ischemia. *J Ethnopharmacol.* 2015;175:451-5.
- Task Force M, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2013;34(38):2949-3003.
- Tavecchio M, Lisanti S, Bennett MJ, Languino LR, Altieri DC. Deletion of cyclophilin D impairs beta-oxidation and promotes glucose metabolism. *Sci Rep.* 2015;5:15981.
- Telmisartan Randomised AssessmeNt Study in ACE intolerant subjects with cardiovascular disease (TRANSCEND) investigators; Yusuf S, Teo K, Anderson C, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, Dagenais G, Sleight P. Effects of the angiotensin-receptor blocker telmisartan on

cardiovascular events in high-risk patients intolerant to angiotensin-converting enzyme inhibitors: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;372(9644):1174-83.

- Ten Cate H, Meade T. The Northwick Park Heart Study: Evidence from the laboratory. *J Thromb Haemost*. 2014;12(5):587-92.
- 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.
- Thauer RK. Citric-acid cycle, 50 years on. Modifications and an alternative pathway in anaerobic bacteria. *Eur J Biochem*. 1988;176(3):497-508.
- Thomes P, Rajendran M, Pasanban B, Rengasamy R. Cardioprotective activity of *Cladosiphon okamuranus* fucoidan against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Phytomedicine*. 2010;18(1):52-7.
- Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, Haverkate F, van de Loo JC. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *N Engl J Med*. 1995;332(10):635-41.
- Thorin E, Webb DJ. Endothelium-derived endothelin-1. *Pflugers Arch*. 2010;459(6):951-8.
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Glob Heart*. 2018;13(4):305-38.
- Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J*. 2010;31(18):2197-204.
- Tian M, Yuan YC, Li JY, Gionfriddo MR, Huang RC. 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.
- Timercan T, Svet I, Pantea V, Ambros A, Lisii L. Advanced glycation end products in isoproterenol-induced acute myocardial infarction. *Med Pharm Rep*. 2019;92(3):235-8.
- Timmers L, Pasterkamp G, de Hoog VC, Arslan F, Appelman Y, de Kleijn DP. The innate immune response in reperfused myocardium. *Cardiovasc Res*. 2012;94(2):276-83.
- Tirosh A, Shai I, Afek A, Dubnov-Raz G, Ayalon N, Gordon B, et al. Adolescent BMI trajectory and risk of diabetes versus coronary disease. *N Engl J Med*. 2011;364(14):1315-25.
- Todorovic D, Stojanovic M, Gopcevic K, Medic A, Stankovic S, Kotlica B, et al. Effects of four weeks lasting aerobic physical activity on cardiovascular biomarkers, oxidative stress and histomorphometric changes of heart and aorta in rats with experimentally induced hyperhomocysteinemia. *Mol Cell Biochem*. 2023;478(1):161-72.
- Todorovic D, Stojanovic M, Medic A, Gopcevic K, Mutavdzin S, Stankovic S, et al. Four weeks of aerobic training affects cardiac tissue matrix metalloproteinase, lactate dehydrogenase and malate dehydrogenase enzymes activities, and hepatorenal biomarkers in experimental hyperhomocysteinemia in rats. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13).
- Toyota N, Shimada Y. Isoforms of troponin during regeneration of chicken skeletal muscle fibers after cold injury. *Cell Tissue Res*. 1984;236(3):549-54.
- Trelinski J, Witkowski M, Chojnowski K, Neerman-Arbez M, Wypasek E, Undas A. Fibrinogen Lodz: a new cause of dysfibrinogenemia associated with recurrent thromboembolic arterial events. *Pol Arch Intern Med*. 2019;129(12):934-5.
- Tsao CW, Aday AW, Almarazooq ZI, Alonso A, Beaton AZ, Bittencourt MS, et al. Heart disease and stroke statistics-2022 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2022;145(8):e153-e639.
- Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodelling. *Cardiovasc Res*. 2009;81(3):449-56.
- Tubbs E, Theurey P, Vial G, Bendridi N, Bravard A, Chauvin MA, et al. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) integrity is required for insulin signaling and is implicated in hepatic insulin resistance. *Diabetes*. 2014;63(10):3279-94.

- Turkyilmaz E, Ozkalayci F, Birdal O, Karagoz A, Tanboga IH, Tanalp AC, et al. Serum albumin to creatinine ratio and short-term clinical outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Angiology*. 2022;73(9):809-17.
- Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol*. 2003;552(Pt 2):335-44.
- Twig G, Yaniv G, Levine H, Leiba A, Goldberger N, Derazne E, et al. Body-mass index in 2.3 million adolescents and cardiovascular death in adulthood. *N Engl J Med*. 2016;374(25):2430-40.
- Umadevi B, Roopkala MS, Silvia WDCR, Kumar KMP Role of von Willebrand factor in type 2 diabetes mellitus patients. *J Evolution Med Dent Sci*. 2016;5(81):6075-9.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 2006;160(1):1-40.
- van der Hoorn JW, Jukema JW, Havekes LM, Lundholm E, Camejo G, Rensen PC, et al. The dual PPARalpha/gamma agonist tesaglitazar blocks progression of pre-existing atherosclerosis in APOE*3Leiden.CETP transgenic mice. *Br J Pharmacol*. 2009;156(7):1067-75.
- 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.
- van der Valk FM, Bekkering S, Kroon J, Yeang C, Van den Bossche J, van Buul JD, et al. Oxidized phospholipids on lipoprotein(a) elicit arterial wall inflammation and an inflammatory monocyte response in humans. *Circulation*. 2016;134(8):611-24.
- Van Tassel BW, Lipinski MJ, Appleton D, Roberts CS, Kontos MC, Abouzaki N, et al. Rationale and design of the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial-3 (VCU-ART3): A randomized, placebo-controlled, double-blinded, multicenter study. *Clin Cardiol*. 2018;41(8):1004-8.
- Van Tassel BW, Raleigh JM, Abbate A. Targeting interleukin-1 in heart failure and inflammatory heart disease. *Curr Heart Fail Rep*. 2015;12(1):33-41.
- van Veelen A, van der Sange NMR, Henriques JPS, Claessen B. Identification and treatment of the vulnerable coronary plaque. *Rev Cardiovasc Med*. 2022;23(1):39.
- VanDyck TJ, Pinsky MR. Hemodynamic monitoring in cardiogenic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2021;27(4):454-9.
- Vane J, Corin RE. Prostacyclin: a vascular mediator. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003;26(6):571-8.
- Varnava AM, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation*. 2002;105(8):939-43.
- Vasan RS, Sullivan LM, Wilson PW, Sempos CT, Sundstrom J, Kannel WB, et al. Relative importance of borderline and elevated levels of coronary heart disease risk factors. *Ann Intern Med*. 2005;142(6):393-402.
- Verdouw PD, van den Doel MA, de Zeeuw S, Duncker DJ. Animal models in the study of myocardial ischaemia and ischaemic syndromes. *Cardiovasc Res*. 1998;39(1):121-35.
- Vergnani L, Hatik S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, et al. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production : key role of L-arginine availability. *Circulation*. 2000;101(11):1261-6.
- Viola M, de Jager SCA, Sluijter JPG. Targeting Inflammation after Myocardial Infarction: A Therapeutic Opportunity for Extracellular Vesicles? *Int J Mol Sci*. 2021;22(15).
- Virani SS, Newby LK, Arnold SV, Bittner V, Brewer LC, Demeter SH, et al. 2023 AHA/ACC/ACCP/ASPC/NLA/PCNA Guideline for the Management of Patients With Chronic Coronary Disease: A Report of the American Heart Association/American College of Cardiology Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2023;148(9):e9-e119.
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Finn AV, Gold HK, Tulenko TN, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(10):2054-61.

- Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Back M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Prev Cardiol.* 2022;29(1):5-115.
- Vogt S, Portig I, Irsqusi M, Ruppert V, Weber P, Ramzan R. Heat shock protein expression and change of cytochrome c oxidase activity: presence of two phylogenetic old systems to protect tissues in ischemia and reperfusion. *J Bioenerg Biomembr.* 2011;43(4):425-35.
- Wald DS, Morris JK, Wald NJ. Reconciling the evidence on serum homocysteine and ischaemic heart disease: a meta-analysis. *PLoS One.* 2011;6(2):e16473.
- Wang D, Luo C, Li Q, Zheng T, Gao P, Wang B, et al. Association between lactate/albumin ratio and all-cause mortality in critical patients with acute myocardial infarction. *Sci Rep.* 2023;13(1):15561.
- Wang J, Bo H, Meng X, Wu Y, Bao Y, Li Y. A simple and fast experimental model of myocardial infarction in the mouse. *Tex Heart Inst J.* 2006;33(3):290-3.
- Wang P, Heitman J. The cyclophilins. *Genome Biol.* 2005;6(7):226.
- Wang XT, Gong Y, Zhou B, Yang JJ, Cheng Y, Zhao JG, et al. Ursolic acid ameliorates oxidative stress, inflammation and fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats. *Biomed Pharmacother.* 2018;97:1461-7.
- 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.
- Wang Y, Gao S, Hong L, Hou T, Liu H, Li M, et al. Prognostic impact of blood urea nitrogen to albumin ratio on patients with sepsis: a retrospective cohort study. *Sci Rep.* 2023;13(1):10013.
- Ward-Caviness CK, de Vries PS, Wiggins KL, Huffman JE, Yanek LR, Bielak LF, et al. Mendelian randomization evaluation of causal effects of fibrinogen on incident coronary heart disease. *PLoS One.* 2019;14(5):e0216222.
- Weaver ME, Pantely GA, Bristow JD, Ladley HD. A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man. *Cardiovasc Res.* 1986;20(12):907-17.
- Weber M, Hamm C. Redefinition of myocardial infarction--relevance of biomarkers. *Herz.* 2008;33(2):115-21.
- Weisman HF, Healy B. Myocardial infarct expansion, infarct extension, and reinfarction: pathophysiologic concepts. *Prog Cardiovasc Dis.* 1987;30(2):73-110.
- Weissberg PL. Atherogenesis: current understanding of the causes of atheroma. *Heart.* 2000;83(2):247-52.
- Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Jr., Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: Executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2018;138(17):e426-e83.
- Wilson PW, Bozeman SR, Burton TM, Hoaglin DC, Ben-Joseph R, Pashos CL. Prediction of first events of coronary heart disease and stroke with consideration of adiposity. *Circulation.* 2008;118(2):124-30.
- Wong ZW, Thanikachalam PV, Ramamurthy S. Molecular understanding of the protective role of natural products on isoproterenol-induced myocardial infarction: A review. *Biomed Pharmacother.* 2017;94:1145-66.
- Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res Health.* 2003;27(4):277-84.
- 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.
- Wu N, Chen Y, Hou M. Level of von Willebrand factor to assess the occurrence and prognosis of acute myocardial infarction. *Ann Palliat Med.* 2021;10(10):10444-9.

- Yang G, Wang Y, Zeng Y, Gao GF, Liang X, Zhou M, et al. Rapid health transition in China, 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2013;381(9882):1987-2015.
- Yang X, Gao Y, Zhou J, Zhen Y, Yang Y, Wang J, et al. Plasma homocysteine thiolactone adducts associated with risk of coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 2006;364(1-2):230-4.
- Yang Z, Zingarelli B, Szabo C. Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2000;101(9):1019-26.
- Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis*. 2000;148(2):209-14.
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
- Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: General considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001;104(22):2746-53.
- Zabczyk M, Ariens RAS, Undas A. Fibrin clot properties in cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical practice. *Cardiovasc Res*. 2023;119(1):94-111.
- Zaki SM, Abdalla IL, Sadik AOE, Mohamed EA, Kaooh S. Protective role of N-acetylcysteine on isoprenaline-induced myocardial injury: Histological, immunohistochemical and morphometric study. *Cardiovasc Toxicol*. 2018;18(1):9-23.
- Zamaraev AV, Kopeina GS, Prokhorova EA, Zhivotovsky B, Lavrik IN. Post-translational modification of caspases: The other side of apoptosis regulation. *Trends Cell Biol*. 2017;27(5):322-39.
- Zaragoza C, Gomez-Guerrero C, Martin-Ventura JL, Blanco-Colio L, Lavin B, Mallavia B, et al. Animal models of cardiovascular diseases. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:497841.
- Zavala F, Masson A, Brys L, de Baetselier P, Descamps-Latscha B. A monoclonal antibody against peripheral benzodiazepine receptor activities the human neutrophil NADPH-oxidase. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;176(3):1577-83.
- Zeng M, Yan H, Chen Y, Zhao HJ, Lv Y, Liu C, et al. Suppression of NF-kappa B reduces myocardial no-reflow. *PLoS One*. 2012;7(10):e47306.
- Zhang GX, Kimura S, Nishiyama A, Shokoji T, Rahman M, Yao L, et al. Cardiac oxidative stress in acute and chronic isoproterenol-infused rats. *Cardiovasc Res*. 2005;65(1):230-8.
- Zhang H, Dhalla NS. The role of pro-inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Int J Mol Sci*. 2024;25(2).
- Zhang H, Kang K, Chen S, Su Q, Zhang W, Zeng L, et al. High serum lactate dehydrogenase as a predictor of cardiac insufficiency at follow-up in elderly patients with acute myocardial infarction. *Arch Gerontol Geriatr*. 2024;117:105253.
- Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc Med*. 2022;23(2):73.
- Zhang J, Wang YT, Miller JH, Day MM, Munger JC, Brookes PS. Accumulation of succinate in cardiac ischemia primarily occurs via canonical Krebs cycle activity. *Cell Rep*. 2018;23(9):2617-28.
- Zhang K, Yang L, Wu X, Zheng X, Zhao Y. Urea nitrogen-to-albumin ratio predicts ventricular aneurysm formation in ST-segment elevation myocardial infarction. *ESC Heart Fail*. 2024;11(2):974-85.
- Zhang X, Li X, Wang C, Li H, Wang L, Chen Y, et al. Ameliorative effect of ferruginol on isoprenaline hydrochloride-induced myocardial infarction in rats. *Environ Toxicol*. 2021;36(2):249-56.
- Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev*. 2014;94(3):909-50.
- Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, Silachev DN, Pevzner IB, Jankauskas SS, et al. Mitochondrial membrane potential. *Anal Biochem*. 2018;552:50-9.

- Zweier JL, Chen CA, Druhan LJ. S-glutathionylation reshapes our understanding of endothelial nitric oxide synthase uncoupling and nitric oxide/reactive oxygen species-mediated signaling. *Antioxid Redox Signal.* 2011;14(10):1769-75.

SPISAK SKRAĆENICA

4'-CIDzp – 4'- hlordiazepam	HDL – lipoproteinski holesterol velike gustine
α -AMY – alfa amilaza	HHcy – hiperhomocisteinemija
ACE – angiotenzin konvertujući enzim	hs cTnT – visoko senzitivni kardijalni troponin T
acetil-CoA – acetil-koenzima A	Hsp – proteini toplotnog šoka
ADMA – asimetrični dimetilarginin	ICAM-1 – intercelularni adhezivni molekul-1
AKS – akutni koronarni sindrom	IHD – ishemijska bolest srca
ALB – albumin	IL – interleukin
ALP – alkalna fosfataza	iNOS – inducibilna azotmonoksid sintaza
ALT – alanin aminotransferaza	i.p. – intraperitonealno
AMI – akutni infarkt miokarda	ISO – izoproterenol ili izoprenalin
AngI – angiotenzin I	LDH – laktat dehidrogenaza
AngII – angiotenzin II	LDL – lipoproteinski holesterol niske gustine
ANT – adenin nukleotid translokaza	MAT – metionin S-adenoziltransferaza
apoE – apolipoprotein E	MCP-1 – monocit hemotaktični faktor 1
ASCVD – aterosklerotska kardiovaskularna bolest	Met – metionin
AST – aspartat aminotransferaza	MI – infarkt miokarda
AT1R – Ang II tip 1 receptor	MMP – matriksna metaloproteinaza
AT2R – Ang II tip 2 receptor	mPTP – mitohondrijalna permeabilizacijska pora
ATP – adenzin trifosfat	Na ⁺ – natrijum
BMI – indeks telesne mase	NADH – nikotinamid adenin dinukleotid
CAD – koronarna arterijska bolest	NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
Ca ²⁺ – kalcijum	NCX – kontransporter Na ⁺ -Ca ²⁺ kanala
CABG – hiruška revaskularizacija miokarda	NF- κ B – nuklearni faktor kapa B
cAMP – ciklični adenzin monofosfat	Nfr2 – nuklearni eritroidni 2 slični faktor
CAT – katalaza	NO – azot monoksid
CCS – kanadsko kardiovaskularno društvo	nNOS – neuronalna azotmonoksid sintaza
cGMP – ciklični gvanozin monofosfat	NOS – azotmonoksid sintaza
CK – kreatin kinaza	NOX – NADPH oksidaza
COX – ciklooksigenaza	NSTEMI – infarkt miokarda bez ST elevacije
CRP – C-reaktivni protein	oxLDL – oksidovani lipoproteinski holesterol niske gustine
cTnC – kardijalni troponin C	PAF – faktor aktivacije trombocita
cTnI – kardijalni troponin I	PAI-1 – plazminogen aktivator inhibitor
cTnT – kardijalni troponin T	PCI – perkutana koronarna intervencija
CVD – kardiovaskularne bolesti	PCSK9 – proprotein konvertaza subtilizin/keksin tip 9
CyP-D – ciklofilin D	PCWP – plućni kapilarni pritisak
CyPs – ciklofilini	PRRs – pattern recognition receptors
Cys – cistein	PTAH – hematoksilin fosfotungstične kiseline
CytC – citohrom C	RAAS – renin-angiotenzin-aldosteron system
DAMPs – molekularni obrasci povezani sa oštećenjem tkiva	RIRR – oslobađanje ROS indukovano ROS
ECD – endotelna disfunkcija	RNS – reaktivne azotne vrste
ELAM – endotelno-leukocitni adhezivni molekul	ROS – reaktivne kiseonične vrste
eNOS – endotelna azotmonoksid sintaza	SAH – S-adenozilhomocistein
ESC – evropsko udruženje kardiologa	SAM – S-adenozilmetionin
f.r. – fiziološki rastvor	s.c. – subkutano
GPx – glutation peroksidaza	SIRT6 – sirtuini NAD ⁺ zavisni
GRACE – Global Registry of Acute Coronary Events	SNS – simpatički nervni sistem
GSH – redukovani glutation	SOD – superoksid dizmutaza
GSSG – oksidovani glutation, glutation disulfid	STEMI – infarkt miokarda sa elevacijom ST segmenta
H ₂ O ₂ – vodonik peroksid	TC – ukupni holesterol
Hcy – homocistein	TG – trigliceridi
Hcy-T – homocistein tiolakton	THB – tetrahidrobiopterin

TIMI – Thrombolysis in Myocardial Infarction

TNF- α – faktor nekroze tumora

TP – ukupni proteini

tPA – tkivni plazminogen aktivator

TSPO – translokatorni protein

VCAM-1 – vaskularni adhezivni molekul-1

VDAC – voltage-dependent anion channel

vWF – von Willebrandov faktor

Publikovani radovi iz ove doktorske disertacije

Originalni radovi in extenso u časopisima sa JCR (Journal Citation Reports) liste:

Ilic A, Todorovic D, Mutavdzin S, Boricic N, Bozic Nedeljkovic B, Stankovic S, Simic T, Stevanovic P, Celic V, Djuric D. 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. doi:10.3390/ijms22062867. (M21; IF=6.208).

Pregledni radovi:

Ilic A, Celic V, Djuric D. Translokatorni protein i infarkt miokarda – koja je uloga?. *Medicinski podmladak* (in press). 2026;77(3). doi:10.5937/mp77-49538.

Biografija autora

Dr Ana Ilić (devojačko Stevanović) rođena je 15.10.1987. godine u Kruševcu. Osnovnu školu „20.oktobar” u Beogradu završila je kao dobitnica Vukove diplome, potom X gimnaziju „Mihajlo Pupin” u Beogradu kao odličan đak. U toku srednje škole bila je polaznik Regionalnog centra za talente u oblasti hemije, 2005. godine osvojila je III mesto na 47. Republičkoj takmičarskoj smotri radova naučnog i umetničkog stvaralaštva talenata. Integrisane akademske studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je 2006. godine, a diplomirala je 2013. godine sa prosečnom ocenom 8,81 (osam, osamdeset i jedan). Doktorske akademske studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je 2013. godine, smer: Fiziološke nauke. Tema doktorske disertacije „Efekti modulacije translokatornog proteina i NO sintaze na funkcionalne i biohemijske promene srca u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom” odobrena joj je odlukom Veća naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu 2019.godine, za mentora je imenovan prof. dr Dragan Đurić, a za komentora prof. dr Vera Čelić.

Zaposlena je na Klinici za internu medicinu „KBC Dr Dragiša Mišović – Dedinje“. Specijalizaciju iz Interne medicine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisala 2014. godine, 2022. godine je položila specijalistički ispit sa odličnom ocenom. Potom je 2022. godine upisala užu specijalizaciju iz oblasti kardiologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. 2016. godine je postala član Ehokardiografskog udruženja Srbije ECHOS. Od 2017. godine član je projekta „Efekti homocisteina i homocisteinu srodnih supstanci na kardiovaskularni sistem: uloga gasnih transmitera NO, H₂S i CO“ broj projekta: OI 175043, pod rukovodstvom prof. dr Dragana Đurića. Dr Ana Ilić je autor i koautor 15 radova štampanih *in extenso* u časopisima sa JCR liste. Učesnik je većeg broja naučnih skupova u zemlji i inostranstvu. Za naučnoistraživački rad predstavljen na „The 7th Meeting of the European Section and the 8th Meeting of the North American Section of the International Academy of Cardiovascular Sciences (IACS)” 2021. godine u Banja Luci dobila je nagradu za najbolji poster. Koistraživač je *EurObservational Research Programme - Heart Failure Long-term Registry* i *EurObservational Research Programme - Atrial Fibrillation General Long Term Registry*.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: **Ana Ilić (Stevanović)**

Broj indeksa: **FN-05/13**

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom:

Efekti modulacije translokatornog proteina i NO sintaze na funkcionalne i biohemijske promene srca u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, 29.05.2024. godine

Ana Ilić

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: **Ana Ilić (Stevanović)**

Broj indeksa: **FN-05/13**

Studijski program: **Doktorske studije iz medicinskih nauka – smer Fiziološke nauke**

Naslov rada: **Efekti modulacije translokatornog proteina i NO sintaze na funkcionalne i biohemijske promene srca u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom**

Mentori: **prof. dr Dragan Đurić, prof. dr Vera Ćelić**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjivanja u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, 29.05.2024. godine



Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Efekti modulacije translokatornog proteina i NO sintaze na funkcionalne i biohemijske promene srca u eksperimentalnom modelu infarkta miokarda izazvanog izoprenalinom

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

Potpis autora

U Beogradu, 29.05.2024. godine

Olga Ilić

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo - nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno - bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo - nekomercijalno - deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo - bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo - deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.