



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Јелена Шмигић

**Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (L3) (S,S)–
етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида и
његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну
циркулацију пацова**

Докторска дисертација

МЕНТОР: Проф. др сци. мед. Владимир Живковић, ванредни професор

Крагујевац, 2019. година

САДРЖАЈ:

I.	УВОД	6
1.1.	Појам кардиотоксичности изазване применом хемотерапеутика	7
1.2.	Кардиоваскуларне компликације примене хемотерапеутика	8
1.2.1.	Срчана слабост – инсуфицијенција миокарда	9
1.2.2.	Исхемија миокарда	10
1.2.3.	Артеријска хипертензија	11
1.2.4.	Тромбоемболије	12
1.2.5.	Аритмије и примена антикоагулантне терапије	14
1.2.6.	Плућна хипертензија	15
1.3.	Лекови за лечење малигнитета и кардиотоксичност	16
1.3.1.	Антрациклини и кардиотоксичност	16
1.3.2.	Инхибитори рецептора за хумани епидермални фактор раста 2 (HER2) и кардиотоксичност	21
1.3.3.	Митоксантрон и кардиотоксичност	23
1.4.	Цисплатина и клиничка употреба	24
1.4.1.	Цисплатина и развој кардиотоксичности	27
II.	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ	30
III.	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	32
3.1.	Испитивана популација	33
3.2.	Експериментални протокол	33
3.3.	Експериментални модел изолованог срца пацова	34
3.4.	Биохемијске анализе	36
3.4.1.	Одређивање биохемијских маркера оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту	36
3.4.2.	Одређивање биохемијских маркера оксидационог стреса и ензима антиоксидационе заштите у прикупљеним узорцима крви	37
3.4.3.	Одређивање липидног статуса пацова	39
3.4.4.	Одређивање биохемијских показатеља функције бубрега пацова	39
3.4.5.	Одређивање биохемијских показатеља функције јетре пацова	39
3.5.	Статистичка обрада података	40
IV.	РЕЗУЛТАТИ	41

4.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину и биохемијске маркере пацова	42
4.1.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину пацова ..	42
4.1.2. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске маркере пацова.....	43
4.2. Утицај хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова.....	46
4.2.1. Утицај хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	46
4.2.2. Утицај хроничне адиминистратије октаедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K ₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова.....	50
4.2.3. Утицај хроничне адиминистратије Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL ₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	54
4.2.4. Поређење ефеката хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	58
4.3. Утицај хроничне адиминистратије цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	61
4.3.1. Поређење ефеката хроничне адиминистратије цисплатине и физиолошког раствора (F) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова.....	64
4.4. Поређење ефеката хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са цисплатином на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	65
4.5. Утицај хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	68
4.5.1. Утицај хроничне адиминистратије лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	68

4.5.2. Утицај хроничне адиминистрације октаедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K ₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	72
4.5.3. Утицај хроничне адиминистрације Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL ₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	76
4.5.4. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	79
4.6. Утицај хроничне адиминистрације цисплатине на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	81
4.6.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	83
4.7. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са цисплатином на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	84
4.8. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре системског оксидационог стреса у плазми	86
4.8.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре системског оксидационог стреса у плазми	86
4.8.2. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре системског оксидационог стреса у плазми.....	87
4.9. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре системског оксидационог стреса у плазми	89
4.10. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са цисплатином на параметре системског оксидационог стреса у плазми.....	90

4.11. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита	92
4.11.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита	92
4.11.2. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита	93
4.12. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита	95
4.12. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L ₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃) и двовалентним паладијумом [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) са цисплатином на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита	96
V. ДИСКУСИЈА	98
5.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину пацова	101
5.2. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске маркере пацова	103
5.3. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L ₃), његових комплекса [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃), [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) и цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова	105
5.4. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L ₃), његових комплекса [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃), [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) и цисплатине на срчане и системске про-оксидационе параметре пацова	111
5.5. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L ₃), његових комплекса [PtCl ₄ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (K ₃), [PdCl ₂ {(S,S)-Et ₂ eddch}] (PdL ₃) и цисплатине на параметре антиоксидационог система заштите пацова	115
VI. ЗАКЉУЧЦИ	118
VII. ЛИТЕРАТУРА	121

I. УВОД

1.1. Појам кардиотоксичности изазване применом хемотерапеутика

Кардиотоксичност је једна од најчешћих и најозбиљнијих компликација примене хемотерапеутика у терапији карцинома. Поједини аутори све кардиоваскуларне компликације примене хемотерапеутика подразумевају под термином „кардиотоксичност“. Срчана слабост изазвана хемотерапијом (енгл. *Chemotherapy-Induced Heart Failure* - CИHF) или срчана дисфункција повезана са терапијом карцинома (енгл. *Cancer Therapeutics Related Cardiac Dysfunction* - CTRCD) су термини који се практично сматрају синонимима, а клинички подразумевају смањење ејекционе фракције леве коморе испод одређених граничних вредности. Важећи став Европског удружења кардиолога (European Society of Cardiology) којим се дефинише кардиоваскуларна токсичност изазвана лечењем карцинома подразумева смањење ејекционе фракције леве коморе за $\geq 10\%$ испод 50% као „кардиотоксичност“ (1). Историјски гледано, постоје два основна облика срчане слабости изазване хемотерапијом (CИHF): 1) тип 1 или тип антрациклинског оштећења; и 2) тип 2 или тип оштећења трастузумабом. Наведена класификација произилази из разлика у механизму настанка и клиничким манифестацијама оштећења миокарда која настају деловањем претходно поменутих супстанци. Претходне класификације, попут поделе оштећења на ирверзибилна тип 1 и реверзибилна тип 2, више нису валида због великог степена преклапања. Поред тога, више класичних хемотерапеутика се доводи у везу са повећаним ризиком за настајање CИHF, при чему се њихов број стално повећава, имајући у виду да се стално уводе у испитивања нови хемотерапеутици. Суочавајући се са повећаном разновршношћу хемотерапеутика поједини аутори захтевају нову класификацију кардиотоксичности која се заснива на фармакодинамским својствима и патофизиолошким механизмима, што делује разумно имајући у виду да боље сагледавање молекулских механизма може да пружи не само прецизнија очекивања клиничких компликација, већ и нове стратегије превенције и терапијских интервенција.

Кардиоонкологија је ново развојно поље кардиологије, а бави се испитивањем кардиоваскуланих оштећења код пацијената са карциномом. Базични циљеви кардиоонкологије су превенција, дијагностика и лечење кардиотоксичности изазване

хемотрапијом и/или радиотерапијом. Нешто специфичнији циљеви су дијагностика и лечење примарних и метастатских тумора срца и срчане амилоидозе.

Кардиотоксичност изазвана антрациклином је први пут забележена седамдесетих година прошлог века (2). Од тада резултати великог броја истраживања указују на повезаност између настајања кардиотоксичности и лоше прогнозе и исхода лечења (3). У новије време, када су нови, циљани и ефикаснији молекули уведени у клиничку онкологију, кардиотоксични ефекти - који нису ретки - могу потенцијално надмашити теоретску клиничку корист. Инциденција кардиотоксичности варира у зависности од врсте примењених хемотерапеутика. Доксорубицин се повезује са кардиотоксичношћу код 3–26% лечених пацијената, трастузумаб у 2–28%, а сунитиниб у 2,7–11% (4). Резултати скоро спроведеног клиничког истраживања показали су да 6,6% пацијената са карциномом дојке или хематолошким малигним обољењем који су лечени хемотерапијом разивају срчану слабост (5). Поред тога, пацијенти са карциномом такође имају већи ризик за настајање болести коронарних артерија, аритмија и тромбоемболије (6). Занимљива је чињеница да рак и болест коронарних крвних судова имају исте генетске и унутарћелијске метаболичке путеве. Лечење пацијената оболелих од карцинома је сложено и захтева мултидисциплинарни тимски приступ који укључује онкологе, хирурге, радиологе и клиничке кардиологе.

1.2. Кардиоваскуларне компликације примене хемотерапеутика

Антиканцерски лекови се доводе у везу са великим бројем компликација у кардиоваскуларном систему, укључујући: артеријску и плућну хипертензију, суправентрикуларне и вентрикуларне аритмије, систолну и дијастолну дисфункцију и коронарну болест срца. Као могући узроци настајања наведених поремећаја индукованих хемотерапијом и радиотерапијом најчешће се наводе ендотелна дисфункција, тромбогенеза и оштећење миокарда.

1.2.1. Срчана слабост – инсуфицијенција миокарда

Према недавно постигнутом консензусу стручњака за кардио-онкологију, клинички значајна кардиотоксичност након хемотерапије постоји уколико су испуњени наведени ехокардиографски критеријуми: 1) апсолутно смањење ејекционе фракције леве коморе за $\geq 10\%$ и 2) ејекциона фракција $< 50\%$. Поред тога, као рани маркер непосредне кардиотоксичности користи се параметар под називом глобална лонгитудинална напетост леве коморе (енг. *left ventricular global longitudinal strain* - GLS), при чему се смањење GLS веће од 15% током хемотерапије повезује са већом вероватноћом за скорим развојем систолне инсуфицијенције (7).

Најчешће се наводе два патофизиолошка механизма за настајање кардиотоксичности изазване хемотерапијом. Први механизам подразумева „директну“ кардиотоксичност, односно оштећење и некрозу кардиомиоцита изазвану применом хемотерапеутика, чиме се узрокује трајно, ирверзибилно оштећење и инсуфицијенција миокарда (кардиотоксичност типа I). Други механизам укључује инхибицију физиолошких функција миокарда, при чему настаје стање такозваног „омамљеног“ (енг. *stunned*), и знатна али потенцијално реверзибилна инсуфицијенција миокарда (кардиотоксичност типа II) (8). Кардиотоксичност типа I у оквиру које настаје оштећење ћелија и последична некроза и кардиотоксичност типа II која подразумева поремећај функције миофибрила могу да се посматрају као клинички одвојени ентитети (9). Ипак, ово раздвајање није стриктно и оба типа кардиотоксичности се врло често преклапају и имају адитивне или синергистичке ефекте. Наиме, директно оштећење миокарда може да буде реверзибилно уколико је умерено, а са друге стране, поремећај функције контрактилних елемената може да изрокује повећање оксидационог стреса и последичну ирверзибилну некрозу. Ипак, антиканцерогени агенси који не изазивају акутно оштећење миокарда, услед чега могу безбедно да се примењују током дужег периода, посредују у суштински другачијем облику кардиотоксичности у односу на супстанце које испољавају кумулативну, дозно-зависну токсичност (10). Објашњење механизма којима неки антиканцерски лекови испољавају кардиотоксичност ограничавајући се на миофибриле, док други оштећују органеле чиме показују тенденцију ка изазивању трајног оштећења, било је предмет великог броја истраживања, али ипак остаје доста непознаница и контроверзи (11).

Класичан пример кардиотоксичности типа I је кардиотоксичност изазвана антрациклинима, што обично зависи од дозе, док је пример за кардиотоксичност типа II она коју изазива трастузумаб и она није условљена дозом (12).

Поред директног токсичног ефекта антиканцерских лекова, било на кардиомиоците било на контрактилне елементе, поједни хемотерапеутици могу да испоље своје ефекте променом физиолошких и хемодинамских функција. На пример, хемотерапеутици могу да промене накнадно оптерећење срца (*afterload*) – повећањем вредности крвног притиска, или претходно оптерећење (*preload*) – ретенцијом течности (13, 14). Поред промена које изазивају додатни стрес у миокарду, може да настане погоршање или убрзавање стопе некрозе кардиомиоцита. На тај начин, поједини хемотерапеутици немају изражено директно токсично дејство, већ изазивају секундарне промене и оштећења која су потенцијално реверзибилна и повлаче се кориговањем хемодинамских поремећаја (15). Прецизирање механизма којима антиканцерски лекови изазивају срчану инсуфицијенцију су кључни за разумевање и примену адекватних превентивних мера у циљу минимизирања ефеката дугорочне примене ових лекова.

1.2.2. Ишемија миокарда

Неки хемотерапијски агенси (5-флуороурацил и гемцитабин) повећавају ризик за настајање коронарне атеросклерозе и акутног коронарног синдрома. Континуирана интравенска инфузија 5-флуороурацила може да изазове ишемију миокарда која се манифестује као бол у грудима и ишемијске електрокардиографске промене, обично између другог и петог дана примене. Овај ефекат не зависи од дозе, а патофизиолошки механизми укључују васкулитис, спазам и тромбозу (16). Најчешће клиничке манифестације подразумевају пекторалну ангину, инфаркт миокарда, перикардитис, диспнеу, едем плућа, кардиогени шок, изненадну срчану смрт, суправентрикуларне аритмије. Подаци у литератури који се тичу ефеката профилактичке примене нитрита и инхибитора калцијумских канала за настајање ишемијских промена миокарда код пацијената на терапији 5-флуороурацилом су опречни. Ипак резултатаи указују на чињеницу да би применом верапамила могло да се спречи настајање аритмија (16). Капецитабин је практично пролек, који се конвртује у 5-флуороурацил у туморским

ћелијама. Инциденција кардиотоксичности варира од 3% до 9%, укључујући инфаркт миокарда, поремећаје у ЕКГ налазу и вентрикулске екстрасистоле (4, 17).

Инхибитори васкуларног ендотелног фактора рста (енг. *vascular endothelial growth factor* - VEGF) као што су бевацизумаб и цисплатин такође се доводе у везу са исхемијом миокарда изазивањем ендотелне дисфункције, хиперкоагулабилности и тромбозе (18). Акутни коронарни синдром изазиван цисплатином настаје у приближно 2% пацијената лечених овим леком (7).

Радиотерапија је, такође, повезана са коронарном атеросклерозом - посебно на ушћу коронарних артерија - и већим ризиком за настајање акутног коронарног синдрома. Кумулативна учесталост коронарне артеријексе болести код пацијената лечених од Хочкиновог лимфома је доста висока, око 20%, чак и након 40 година (19). Због наведених чињеница саветује се дугорочно и детаљно кардиолошко праћење пацијената више година након радиотерапије.

Занимљива је чињеница да коронарна артеријска болест и рак имају сличне факторе ризика и патофизиолошке путеве (попут хроничног запаљења). Показало се да модификација фактора ризика спречава развој и болести коронарних артерија и карцинома, али мало су позната дејства кардиотоксичност изазвану на хемотерапијом или радиотерапијом (6).

1.2.3. Артеријска хипертензија

Хипертензија се релативно често наводи као нежељени ефекат примене више врста хемотерапеутика, пре свега инхибитора VEGF, који узрокују смањење количине азот-моноксида (NO) у зидовима артериола. Може да се развије у било ком тренутку након започињања терапије, а претходно дијагностикована хипертензија је важан фактор ризика за настајање компликација попут хипертензивне енцефалопатије и крварења у централномнервном систему. Хипертензија је чест нежељени ефекат код пацијената који су на терапији бевацизумабом, са укупном инциденцијом која се, према подацима из клиничких студија, налази у рангу између 4% и 35% (20-22). Инциденција се драматично повећава на 67% уколико се комбиновано примењују бевацизумаб и сорафениб, и чак на 92% уколико се комбиновано примењују бевацизумаб и сунитиниб (23). Хипертензија је

најчешћа манифестација кардиотоксичности код пацијената који се лече сунитинибом и настаје током прве четири недеље терапије, при чему је инциденција настајања хипертензије 21,6%, а инциденција настајања хпертензије високог степена 6,8% (24).

Инциденција настајања хипертензије код болесника који примају сорафениб варира од 16% до 42,6%, при чему је инциденција настајања хипертензије 3. и 4. степена од 2,1% до 30,7%. Поред тога, примена сорафениба се доводи у везу са настајањем синдрома постериорне леукоенцефалопатије која се манифестује главобољом, епилептичким нападима, поремећајима вида и акутном хипертензијом (25).

Имајући у виду претходно изнете чињенице, неопходно је интензивно праћење артеријског крвног притиска код пацијената чији тераписјки протоколи укључују наведене лекове, као и примена одговарајућих лекова током и након хемотерапије. Саветује се примена инхибитора ангиотензин-конвертујућег ензима (АСЕ) и блокатора калцијумских канала, изузев у случају хипертензије изазване сорафенибом, услед интеракције која има за последицу повећање концентрације сорафениба (26).

1.2.4. Тромбоемболије

Познато је да малигне болести стварају протромботичну средину, а уз смањено кретање, срчану слабост, фибрилацију преткомора, дехидрацију и примену хемотерапијских агенаса ризик за настајање артеријске и венске тромбоемболије се знатно повећава. Инциденција настајања тромбоемболије знатно варира и зависи од великог броја фактора, пре свега стања пацијента а потом и примене антиканцерских и тромбопрофилактичких лекова (Табела 1).

Табела 1. Инциденција и тип трбоемболије у зависности од примењеног хемотерапеутика

Хемотерапеутик	Инциденција	Тип
Цисплатин	18%	Венска
Талидомид	27%	Венска
Вориностат	5-8%	Венска
Ерлотиниб	3,9-11%	Венска
Бевацизумаб	12%	Артеријска

Прилагођено из Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. Nat Rev Cardiol. 2015;12(9):547-58.

У циљу препознавања пацијената који примеју хемотерапију са високим ризиком за развој тромбоемболијских компликација *Khorana* и сарадници су развили скор за процену ризика који узима у обзир клиничке и лабораторијске параметре попут: локализација карцинома (врло висок ризик за карцином желуца и панкреаса, а висок ризик за карцином плућа, мокраћне бешике, тестиса, лимфоме и гинеколошке малигнитете), вредности тромбоцита пре хемотерапије $\geq 350.000/\text{mm}^3$, вредности хемоглобина мање од 100 g/L, вредности леукоцита пре хемотерапије $>11.000/\text{mm}^3$ и вредност индекса телесне масе већа од 35 kg/m² (27). У популацији пацијената оболелих од карцинома, препознавање пацијената са високим ризиком за настајање тромбоемболије и примена адекватне профилаксе може у великој мери да унапреди и побољша морбидите, морталитет и исход лечења пацијената са карциномом, као и квалитет живота и коришћење здравствених ресурса. Спроведено је више клиничких истраживања у циљу препознавања пацијената са високим ризиком на основу појединачних фактора ризика, попут метастазирајућег карцинома плућа или дојке, или постојања интравенских катетера (28-30), али резултати нису показали бенефите уз примену тромбоемплијске профилаксе. Због наведене чињенице било је значајно развити адекватан модел предикције ризика за настајање тромбоемболије, како би се код таквих пацијената примениле тромбопрофилактичке методе.

Резултати велике ретроспективне студије су показали да постоји знатно висок ризик за настајање тромбоемболије (18,1%) код пацијената који примају хемотерапију која се заснива на цисплатину, најчешће у првих 100 дана од почетка терапијског протокола. Као фактори ризика се наводе пол, старосна доб, раса, *Karnofsky* индекс, примена фактора који стимулишу еритропоезу, локализација карцинома, стадијум развоја карцинома, вредности леукоцита и хемоглобина и вредности *Khorana* индекса (31). Патогенеза васкуларне токсичности коју изазива цисплатин укључује хипомегнеземију, повећане вредности фон Вилебрандовог фактора и оштећење ендотела стварањем прокоагулантних ендотелних микропертикли, и вероватно захвата и венски и артеријски систем за разлику од већине осталих фактора ризика за настајање тромбозе који углавном захватају венски део васкуларног система.

Инциденција тромбоемболијских поремећаја код пацијената који први пут примају талидомид износи 27%, док се код пацијената чији терапијски протокил укључује

вориностат креће у распону од 5% до 8% (4). Примана фармаколошке тромбопрофилактике је препоручљива код пацијената који се лече талидомидом или леналидомидом уз примену високих доза дексаметазона, уколико нема онтраиндикација за примену антикоагулансе (32). Бевацизумаб се доводи у везу и са повећањем ризика за настајање венске тромбоемболије и са повећаним ризиком за настајање крварења.

1.2.5. Аритмије и примена антикоагулантне терапије

Аритмије, суправентрикуларне или вентрикуларне, су релативно чест налаз код пацијената који се лече неким од хемотерапеутских агенаса. На пример, показано је да атријална фибрилација настаје код око 3% пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије који се лече ибрутинибом (33). Насупрот томе, талидомид се доводи у везу са повећаним ризиком за настајање брадиаритмија, због чега се избегава примена бета блокатора и антагониста калцијумских канала код ових пацијената. Арсеник триоксид, који се успешно користи у лечењу релапса акутне промијлоцитне леукемије, изазива продужење QT интервала и може да изазове аритмију *torsades de pointes* (34). Имајући у виду наведену чињеницу, праћење ЕКГ налаза и QT интервала се намеће као императив код пацијената који примају арсеник триоксид пре почетка сваког циклуса терапије. Знатно ређе, и лекови који спадају у инхибиторе тирозин-киназе, инхибиторе протеазома и инхибиторе хистонске деацетилазе могу да изазову пролонгацију QT интервала (34).

Имајући у виду да аритмије повећавају ризик за настајање тромба, логична је примена антикоагулантне терапије, међутим ког оболелих од малигних болести тешко је спровести овакву терапију. Као што је наведено у претходном тексту, оболевање од карцинома и примена хемотерпеутика се доводи у везу са повећањем ризика за настајање тромбоемболије, али такође постоји повећање ризика за настајање крварења као компликације. Скорови који се уобичајено користе код пацијената са атријалном фибрилацијом за процену ризика за настајање тромбоемболије и ризика за настајање крварења нису примењиви код пацијената који уз атријалну фибрилацију имају и малигнитет (7). Поред тога, не постоји довољно података о безбедности и ефикасности примене антагониста витамина К и нових оралних антикоагулантних лекова код пацијената током или након хемотерапије, поготово код пацијената са

тромбоцитопенијом. Услед тога се одлука о примени антикоагуланаса код пацијената који се лече неким од хемиотерапијских агенаса и иамју атријалну фибрилацију доноси за сваког пацијента појединачно. Примена нискомолкулских хепарина или обичног хепарина може да буде краткорочно решење када постоји потреба за примену антикоагулантне терапије (35).

1.2.6. Плућна хипертензија

Плућна хипертензија је обољење васкулатуре плућа које се класификује у пет главних етиолошких група (36). Плућна хипертензија изавана лековима и токсинима је сврстана у групу 1. Карцином може да изазове плућну хипертензију посредством опструкцијом плућне артерије организованим фиброзним тромбом услед хиперкоагулабилног стања, што се сврстава у групу 4 (37, 38). Спољашњи притисак на плућне крвне судове који врши тумор или директно ширење тумора унутар крвних судова, попут лимфома великих В ћелија, изазива плућну хипертензију која се сврстава у групу 5 (39).

Дасатиниб је први лек за који је потврђено да изазива плућну хипертензију код пацијената са хроничном мијелоцитном леукемијом (40). У једном америчком истраживању показано је да се плућна хипертензија потпуно или делимично повукла по завршетку терапије дасатинибом (41). Резултати студије DASISION су показали да се плућна хипертензија развила код 5% пацијената који су примали дасатиниб и код 0,4% пацијената који су лечени имитинибом током пет година (42). Патогенетски механизам индуковања плућне хипертензије дасатинибом вероватно подразумева инхибицију SRC киназе, ензима који има улогу у регулацији пролиферације васкуларних глатких мишићних ћелија и у регулацији вазоконстрикције, тако да инхибиција овог ензима има за последицу повећање васкуларног отпора у плућним крвним судовима (43).

Трансторакална ехосонографија је метода избора за скрининг пацијената за развој плућне хипертензије, а дијагноза се потврђује анализом V/Q скена и катетеризацијом десног срца. Лечење настале плућна хипертензија подразумева искључивање дасатиниба и његову замену за неки други лек из исте групе, уз додатак силденафила, ендотелних антагониста или блокатора калцијумских канала (43). Плућна хипертензија изазвана дасатинибом има релативно добру прогнозу уколико се рано открије и адекватно лечи, а

терапија карцинома може да се настави неким другим леком из групе инхибитора тирозин киназе.

1.3. Лекови за лечење малигнитета и кардиотоксичност

1.3.1. Антрациклини и кардиотоксичност

Антрациклини су први пут уведени у клиничку праксу почетком седамдесетих година прошлог века, и до данас су остали кључни део терапијских протокола за лечење великог броја малигнитета, укључујући: карцином дојке, саркоме, лимфоме и хематолошке малигнитете код деце (44). Оштећење миокарда изазвано антрациклинима је најинтезивније изучавано, и самим тим механизам којим антрациклини испољавају кардиотоксичност најпознатији и најјаснији. Кардиотоксичност повезана са употребом антрациклина рано је препозната и била је довољно неспецифична, тако да су брзо оформљене смернице и препоруке у циљу ограничења кумулативне доза лека и смањења нежељених ефеката на срце (45). Прорачун иницијалне дозе антрациклина сведен је повећавање преживљавања оболелих уз ограничење инциденције срчане слабости испод 5% (46). Веће дозе би знатно повећале кардиотоксичност диспропорционално доданој онколошкој користи. У случају доксорубицина, најчешће коришћеног антрациклина, кумулативна доза која не изазива инциденцију срчане инсуфицијенције већу од 5% је првобитно била прорачуната на 550 mg/m^2 (47). Међутим, испитивањем ефеката доксорубицина на оштећење миокарда које се развија касније, кумулативна доза је смањена на вредности које се налазе у распону од 400 до 450 mg/m^2 , како би се одржала корелација са инциденцијом срчане слабости која није виша од 5% (48). Свакако треба имати у виду да постоје битне индивидуалне варијације сваког пацијента у погледу толеранције и ефеката терапије антрациклинима.

Имајући у виду да су патогенетски путеви којима антрациклини изазивају кардиотоксичност довољно различити од каскадних путева који посредују у остваривању антитуморских ефеката, постоји могућност смањења кардиотоксичности без утицаја на онолошку ефикасност лекова. Резултати истраживања у којима су антрациклини примењивани код мишева показали су да тежина кардиотоксичности корелира са

максималном концентрацијом лека у плазми, док је онколошка ефикасност у већој мери повезана са површином испод криве концентрације у плазми (49, 50). Наведена чињеница је омогућила развој великог броја стратегија намењених селективном смањењу кардиотоксичности, укључујући смањење дозе, продужени распоред инфузије, модификацију молекулске структуре и хемијску кардиопротекцију. Сматра се да механизам антрациклинске кардиотоксичности укључује продукцију реактивних врста кисеоника која је индукована у реакцијама са гвожђем и последично оксидативно оштећење кардиомиоцита (51). Мембране митохондрија су посебно осетљиве на оксидационо оштећење. Резултати скоријих истраживања указују на чињеницу да продукција реактивних врста кисеоника индукована антрациклинима зависи од топоизомеразе-2 β , а мишеви са делицијом овог ензима су практично заштићени од кардиомиопатије изазване доксорубицином (52). Поред наведеног механизма наведени су и други попут: директног оштећења митохондријске ДНК, поремећаја структурног саркомерског протеина титина и поремећаја регулације фактора транскрипције у срцу (53, 54).

Оштећење срца изазвано антрациклинима је дозно зависно. Оштећење кардиомиоцита вероватно почиње након прве примене лека, пошто се вредности тропонина у плазми повећавају одмах након примене прве дозе (55). Повећање кумулативне дозе лека узрокује и повећање броја оштећених кардиомиоцита, и на крају се достиже праг када се дисфункција леве коморе може клинички детектовати неинвазивним методама. Осим мерења биомаркера, једини метод дефинитивног откривања раног оштећења је ипитивање ултраструктуре кардиомиоцитамиоцита (56). Међутим, пропуст у раном откривању оштећења помоћу наведених метода и добијање негативних резултата не значи да срце није оштећено, јер чак и мале кумулативне дозе антрациклина могу да поремете функције срца и остављају срце подложним деловању стресора у каснијем периоду. Употребом новијих неинвазивних техника, укључујући *strain* ехокардиографију и магнетну резонанцу срца, уз проширење палете биомаркера који се одређују, смањен је праг детекције и омогућено је раније препознавање оштећења које, без биопсије срчаног мишића, није било могуће.

Рано откривање оштећења срца омогућава адекватну процену ризика и правовремену интервенцију у циљу спречавања даљег губитка племенитог ткива срца

(57). Резултати највећег броја истраживања на основу којих су и направљени протоколи и поделе оштећења миокарда током примене антрациклина добијени су техникама снимања као што су М-мод и дводимензионална ехокардиографија са Доплеровом сликом или вишеструко скенирање аквизиције (58, 59). Новији модалитети снимања са већом осетљивошћу за откривање срчане инсуфицијенције могу да омогуће прекидање терапије при нижим кумулативним дозама, пре настанка већег оштећења срца. За нове дијагностичке технике свакако је потребна даља валидација како би се направили водичи засновани на валидним доказима из максималну повољност за пацијента у погледу равнотеже између ризика за настајање оштећења срца и онколошког ефекта. Кардиоонколози су се дуго придржавали дефиниције да срчана слабост изазвана применом хемиотерапеутика постоји уколико се ејекциона фракција леве коморе смањи за 5% или више при чему ејекциона фракција леве коморе износи мање од 55% уз постојеће симптома срчане инсуфицијенције, или уколико се ејекциона фракција леве коморе смањи за 10% или више при чему ејекциона фракција леве коморе износи мање од 55% без симптома срчане инсуфицијенције (60). Очигледно је да су потребни нови водичи у клиничкој пракси примене хемотерапеутика имајући у виду бољу предиктивну вредност нових и мољих модалитета имицинга, попут нуклеарне магнетне резонанце срца и *strain* имицинг.

Бројни фактори утичу на степен оштећења срца услед примене антрациклина. Иако је то тешко квантификовати или дефинисати, генетичка варијабилност готово сигурно има улогу у индивидуалној способности толеранције високих кумулативних доза антрациклина без детектабилне или очигледне кардиотоксичности (61). Фактор који има већу предиктивну вредност у погледу препознавања појединаца који су склонији настајању оштећења миокарда током примене антрациклина су анамнестички подаци о ранијем оштећењу миокарда из било ког разлога, као и претходна стања која сведоче о смањеној способности миокарда да толерише повећање стреса или токсично оштећење (62). Педијатријски онколошки пацијенти су посебно осетљиви на кардиотоксичност изазвану антиканцерогеним средствима, имајући у виду механизме који могу да поремете развој незрелог срца, што указује на огромни значај кардиопротекције код оваквих болесника (63). Изложеност терапијским дозама зрачења је фактор ризика који је, на пример, могуће превенирати применом техника које штите срце, попут дубоког

инспиријума и задржавања даха током излагања зрачењу, при чему се избегавају оштећења која могу да остану недетектована годинама или деценијама (64). Такође, исхемични кадруомиоцити су подложнији токсичном дејству антрациклина, тако да корекција евентуалне тешке или критичне исхемије пре увођења антрациклина може да испољи кардиопротективно дејство. Слично томе, хипертензија се такође наводи као фактор ризика за кардиотоксичност изазвану антрациклинима и стога треба да се лечи пре започињања терапије антрациклинима. Сви наведени фактори ризика за настајање оштећења срца изазваног антрациклинима били су у жижи превентивних или раних интервентних стратегија за ублажавање оштећења.

Студије које су се бавиле анализом материјала добијеног ендобиопсијама миокарда показале су да се продуженим инфузијама доксорубицина могу снизити максималне концентрације лека у плазми и чиме се постиже протекција у погледу срчаног оштећења изазвано антрациклинима (65). Испитивани су ефекти инфузија доксорубицина токо 48, 72 и 96 сати. Инфузије које се примењују током 96 сати омогућавају готово двоструко више терапијских циклуса у односу на уобичајену примену уз приближно исти ниво кардиотоксичности. Инфузије које трају дуже од 96 сати нису пожељне због нежељеног дејства у виду улцерација усне дупље, али инфузије које трају 72 сата се добро подносе, а пружају знатан ниво кардиопротекције (66). Иако, су продужене инфузије још увек метода избора у стањима где се очекују високе вршне дозе антрациклина у плазми, због ризика везаних за инфузионе пумпе и могућности настајања инфекције, као и због доступности алтернативних решења, углавном се одустало од ове методе кардиопротекције (67).

Липосомални системи за испоруку за примену доксорубицина су одобрени у САД у пегилованом препарату, а у Европи у и пегилованој и непегилованој формулацији. И величина молекула лека и брзина елиминације могу се променити таквим системима. Веће димензије пегилване липосомалне формулације доксорубицина омогућавају селективно продирање у васкулатуру тумора, имајући у виду да неопластични крвни судови имју крхкије и пропусније капиларно корито (68). Поред тога, пегиловани липозомални доксорубицин има дужи полу-живот у плазми у односу на нативни препарат, чиме се такође постиже кардиопротективно својство. Степен кардиопротекције који се постиже применом липозомалних система је на сличном нивоу у односу на продужене инфузије, чиме се омогућава двоструко више терапијских циклуса уз сличан број нежељених

ефеката на срце. Са друге стране, липозомална инкапсулација може да промени онколошке карактеристике нативног једињења до те мере да се више не може да се сматра заменом за конвенционални доксорубицин, у погледу онколошке ефикасности.

Поред наведених нових метода испоруке лека, једињења настала променом молекулске структуре почетног једињења се такође анализирају у циљу смањења ефеката антрациклина на срце. Епирубицин, 4' епимер доксорубицина, је структурно измењен молекул за који се показало да има смањену кардиотоксичност када се дају еквивалентне миелосупресивне дозе. Иако се сматра да је овај агенс мање кардиотоксична алтернатива доксорубицину, ипак постоје одређене опречности у погледу са чињенице да ли штити или штеди миокард (69-71).

Показано је да дексразозан, циклични дериват етилендиаминотетрасирћетне киселине, селективно штити срце од ефеката антрациклина. Ово једињење је првобитно синтетизовано као антитуморски агенс, али неповољни онколошки профил није омогућио даља истраживања у овом смеру (72). Прелиминарни резултати указују на могућност интерференције дексразозана и доксорубицина, при чему би се смањио антитуморски ефекат доксорубицина (73), тако да би индикација за примену дексразозана била оправдана код пацијенткиња са метастатским карциномом дојке које примају најмање 300 mg/m² доксорубицина, при чему је пожељно повећање дозе доксорубицина. У почетку се сматрало да дексразозан испољава кардиопротекцију неутрализацијом слободних радикала, међутим, новији резултати наводе на закључак да дексразозан инхибира топоизомеразу-2 β , која има улогу кључног посредника кардиотоксичности изазване антрациклинима (74, 75). Наведени механизам даје објашњење на чињеницу да дексразозан има кардиопротективна својства, док неки примењени антиоксиданси немају (49). Неколико мањих клиничких студија је спроведено у циљу испитивања примене β -блокатора и АСЕ инхибитора и превенцији кардиотоксичности изазване антрациклинима, при чему су резултати показали да ови лекови у самосталној или комбиновној примени спречавају смањење ејекционе фракције леве коморе (76, 77). Мета-анализа малог броја постојећих клиничких студија је показала да примена β -блокатора смањује ризик за настајање срчане слабости или смањење ејекционе фракције леве коморе током примене антрациклина за 70%, а примена АСЕ инхибитора за 90% (78). Наведене чињенице подржавају становиште да оптимизација хемодинамике и обезбеђивање повољног

неурохормоналног миљеа пре очекиваног оштећења миокарда антрациклинима, бар делимично, ублажавају повреду кардиомиоцита, омогућавајући што раније лечење. Резултати истраживања која потврђују наведено је нестрпљиво очекују, али имајући у виду финансијску доступност и β -блокатора и АСЕ инхибитора, са једне стране, и релативну нешкодљивост, са друге стране, ови лекови су већ уведени у клиничку праксу као кардиопротективни агенси током примене антрациклина.

Са развојем нових антиканцерских агенаса, од употребе антрациклина у терапији карцинома дојке се одустаје, али ипак ови хемотерапеутици остају кључни део терапијских протокола у лечењу лимфома, саркома и тумора код деце, тако да развој нових кардиопротективних метода током њихове примене остаје императив.

1.3.2. Инхибитори рецептора за хумани епидермални фактор раста 2 (HER2) и кардиотоксичност

Трастузумаб је прво моноклонско антитело које је детаљно испитивану у циљу лечења карцинома (79). Овај молекул инхибира пут рецепторске протеинске тирозин-киназе erbB-2 (енгл. *human epidermal growth factor receptor* - HER2), један од четири епидермална фактора раста за које је показано да се експримирају у повећано мери у више врста рака, укључујући приближно 20-25% од карцинома дојке. ErbB-2 такође постоји у срчаним мишићним ћелијама и у присуству неурегулина-1 активира више сигналних путева, укључујући екстрацелуларним сигналом регулисану киназу (енгл. *extracellular signal-regulated kinase* - ERK) $\frac{1}{2}$ - митогеном-активирану протеинску киназу (МАРК) и фосфоинозитид-3-киназу (PI3K)-Akt. Наведени сигнални путеви регулишу кардиопротективне механизме који регулишу апоптозу, хипертрофични раст, митотски раст, елонгацију ћелија, адхезију ћелија-ћелија, ангиогенезу и осетљивост на адренергичке сигнализације (79). Прекид поменутих сигналних путева може бити потенцијално штетан за срце, што је показано на анималним моделима нокаутом гена за erbB-2 који имају кардиомиопатски фенотип (80, 81).

У почетку се није очекивало да трастузумаб изазове срчану дисфункцију. У испитивању које је спроведено код пацијената са метастатским карциномом дојке са који је био erbB-2-позитиван, 27% пацијената је показало одређени степен срчаног оштећења,

укључујући асимптоматско смањење систолне функције леве коморе, а 19% је имало симптоматско испољавање срчане слабости (82). Имајући у виду да је трастузумаб изузетно ефикасан лек у лечењу еrbB-2-позитивног карцинома дојке, облика болести који је претходно имао лошу прогнозом и субоптимални одговор на терапију, наведени поремећаји срчане функције изазвани трастузумабом су изазвали додатну забринутост. Након тога су спроведена су четири велике мултицентричне студије за процену терапијске ефикасности и нежељених ефеката на срце трастузумаба (83). Резултати ових испитивања, узимајући у обзир и клиничко искуство у терапији карцинома у метастатској фази и адјувантној терапији, указују на чињеницу да број нежељених ефеката трастузумаба вазано са срчану функцију није приближан вредностима које су првобитно публиковани (82), већ се налазе у распону у распону од 1 до 4% (83). Међутим, треба имати у виду да су пацијенти који су укључени у ова истраживања претходно прошли комплетна испитивања у циљу дијагностиковања поремећаја срчане функције, и уколико их је било нису укључени у студије, као и да је током извођења студије био обезбеђен комплетан мониторинг функције срца. Поред тога, настали поремећаји у функцији миокарда били су другачији у поређењу са поремећајима изазваних антрациклинима и одговарају другом типу кардиотоксичности (10) (Табела 2).

Табела 2. Кардиотоксичност изазвана хемотерапеутицима тип 1 и тип 2

Тип	Лек који изазива оштећење срца	Механизам оштећења срца	Природа оштећења срца	Налаз на биопсији	Однос доза-оштећење
Тип I	Доксорубицин Даунорубицин Епирубицин Липосомални доксорубицин Митоксантроне	Директно оштећење кардиомиоцита	Трајно оштећење миоцита, почиње са првом дозом лека	Формирање вакуола, поремећај организације миофибрила, некроза	Кумулативни дозно-зависни ефекат
Тип II	Трастузумаб Сунитиниб Иматиниб Лопатиниб	Дисфункција кардиомиоцита	Реверзибилна дисфункција миоцита са повољном прогнозом	Минималне промене, не уочава се ни једна промена наведена у типу 1	Нема дозно-зависног ефекта

Прилагођено из Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12(9):547-58. Анализом промена у срцу изазваних трастузумабом помоћу електронског микроскопа нису уочене промене које постоје код оштећења изазваних антрациклинима или митоксантроном, а промене у систолној функцији срца су биле реверзибилне и врло често

се нису опет јављале при поновној примени агенса који је изазвао промене. Као што је наведено у претходном тексту, реверзибилност промена при примени агенса који изазивају кардиотоксичност типа 2 указује на чињеницу да не настаје примарно оштећење кардиомиоцита, међутим код појединих пацијената ипак може настати извесан степен некрозе срчаних мишићних ћелија на шта указује повећање концентрације тропонина у плазми (8, 85). Насупрот резултатима студија који потврђују став да се трастузумаб може сигурно примењивати дуги низ година, чак и код пацијената који су искусили и опоравили се од ране контрактилне дисфункције миокарда, ипак постоје докази о изолованим случајевима у којима се опоравак након трастузумаба није догодио (84). Иако је добро позната и прихваћена чињеница да постоје изразите индивидуалне варијације на токсичне ефекте антиканцерогених агенса међу различитим пацијентима, то је само делимично објашњење енигми које окружују кардиотоксичност трастузумаба. Даље испитивање контрадикторних података који се тичу кардиотоксичних ефеката трастузумаба изводи се анализом обимних података добијених од пацијената који прво примају антрациклинске препарате, а затим примају трастузумаб.

1.3.3. Митоксантрон и кардиотоксичност

Митоксантрон је антрацен-дионски антинепластични препарат који се користи за лечење неких облика леукемије, рефрактарних облика карцинома простате и мултипле склерозе (86). Као и антрациклини, митоксантрон испољава кумулативну кардиотоксичност која је дозно-зависна. Митоксантрон изазива примарну кардиотоксичност, односно кардиотоксичност тип 1 јер изазива директно оштећење кардиомиоцита. На кардиомиоцитима који су изложени деловању митоксантрона уочавају се промене на електронском микроскопу које су сличне онима које се виде при деловању антрациклина (87). У терапијским протоколима који подразумевају митоксантрон потребно је применити ограничење дозе и друге примарне стратегије превенције које се користе за лечење кардиотоксичности изазване антрациклинима. Како и митоксантрон и антрациклини изазивају сличне кардиотоксичне ефекте, прелазак са једног на други лек не пружа заштиту од срчане дисфункције. Слично антрациклинима, при процени срчане

функције пацијената изложених митоксантрону, треба имати на уму да иницијални заштитни механизми могу да одложе настајање оштећења срца.

1.4. Цисплатина и клиничка употреба

Цисплатин (*cis-diamminedichloroplatinum* (II) – CDDP) или цисплатина или цисплатинум, је хемотерапијски лек који је у широкој употреби у оквиру терапијских протокола за лечење великог броја малигнух тумора попут: карцинома тестиса, карцинома мокраћне бешике, оваријалних тумора, карцинома дојке, карцинома главе и врата, као и карцинома плућа, као ситноћелијских, тако и крупноћелијских.

Цисплатина је први пут синтетисана 1844. године а за то је заслужан *Michele Peyrone*, а њену хемијску структуру је први пут описао *Alfred Werner* 1893. године (88). Међутим, начна испитивања овог једињења отпочела су тек шездесетих година двадесетог века, при чему је иницијално саопштење о било каквим биолошким ефектима цисплатине дао *Rosenberg* са Универзитета у Мичигену, САД, који је истакао да електролитички производи са платинасте електроде спрачавају размножавање бактерије *Escherichia coli* (89). Наведена чињеница је изазвала велику пажњу и указала на могућност употребе цисплатине као антиканцерског агенса, као и испитивање других координативних комплекса са плементим металима (паладијум, злато) као могућих хемотерапијских супстанци. Значај цисплатине се огледа и у чињеници да је нашао примену у лечењу великог броја малигнитета, нарочито у лечењу карцинома герминативног епитела. Цитотоксични ефекти цисплатине су откривени средином 1960-тих година, а крајем седамдесетих година двадесетог века цисплатина је постала кључни део терапијских протокола за лечење малигнитета репродуктивног система. Наиме, Агениција за храну и лекове Сједињених Америчких Држава (енг. *United States Food and Drug Administration* - USFDA или FDA) је званично одобрила примену цисплатине 1978. године (90).

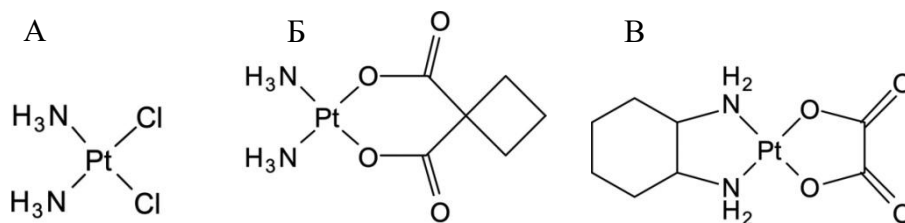
Клинички је доказана оправданост употребе цисплатине у лечењу великог броја малигнитета, укључујући саркоме, неоплазме меких ткива, костију, мишића и крвних судова. Према, наведени малигнитети у скорије време имају нешто бољу прогнозу, услед чега је и степен преживљавања већи а самим тим и опасност по живот, ипак и даље представљају знатан изазов за лечење (91). Такође, имајући у виду тераписка ограничења

у погледу развоја резистенције тумора и постојања нажељених ефеката, комбинована примена цисплатине уз друге хемотерапеутике се указала као терапијска могућност за већи број различитих малигнитета.

Од раних, почетних радова о предклиничким и клиничким испитивањима цисплатине синтетисано је и испитивано неколико хиљада различитих аналога у циљу постизања својстава која би омогућила бољу терапијску примену. Од наведеног броја само 13 аналога је уведено у клиничку фазу истраживања, а само за један од њих (карбаплатин или карбоплатина) показана је извесна предност у односу на цисплатину и ушао је у примену широм света (92, 93). Поред карбоплатине, која је у клиничку употребу уведена 1989. године, једини аналог цисплатине који се користи у клиничкој пракси је још оксалиплатина, која је у клиничку праксу уведена 2002. године (94, 95).

На молекулском нивоу, цисплатина је савршени пример који илуструје како мале промене у структури знатно мењају биолошку активност у циљним ћелијама (96). Цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина садрже јон платине у језгру који је двоструко наелектрисан и окружен са четири лиганда (Слика 1). Са аминским лигандима платина формира јаче везе, док хлоридни лиганди или карбоксилна једињења формирају слабије везе са платином чиме се омогућава везивање платине за молекул ДНК и остваривање биолошког ефекта (96, 88).

Слика 1. Хемијска структура цисплатине (А), карбоплатине (Б) и оксалиплатине (В)



Карбоплатина (*cis diammine (1,1-cyclobutanecarboxylato) platinum* (II)) је хемотерапијски агенс који се користи за лечење карцинома јајника, плућа, главе и врата. У погледу структуре, карбоплатина се разликује од цисплатине јер садржи бидентат дикарбоксилат (CBDCA) лиганд уместо два хлоридна лиганда, који се одвајају у случају цисплатине и омогућавају терапијско деловање (Слика 1). Карбоплатина је мање

реактивна у односу на цисплатину и има спорију кинетику везивања за молекулу ДНК, премда ствара исте производе реакције *in vitro* као и цисплатина при истим примењеним дозама. Резултати појединих истраживања показују да цисплатина и карбоплатина изазивају различите морфолошке промене у MCF-7 ћелијским линијама при испољавању цитотоксичног ефекта (97). Као последица смањене реактивности карбоплатине у односу на цисплатину смањује стварање комплекса карбоплатина-протеини, који се излучују, а смањено излучивање карбоплатине има за последицу дуже задржавање у организму а смањим тим и дуготрајнији ефекат (ретенциони полуживот за карбоплатину износи 30 сати а за цисплатину 1,5 до 3,6 сати). Најзначајнија позитивна страна употребе карбоплатине у односу на цисплатину је мањи број нежељених ефеката, пре свега редуковање нефротоксичности. Главни недостатак карбоплатине је мијелосупресивно дејство, што има за последицу смањење продукције уобличених елемената крви, које некада може да буде драматично, чак само 10% од уобичајене продукције (98).

Са друге стране карбоплатина има мањи терапијски потенцијал у односу на цисплатину. Процењује се да ефикасност карбоплатине, у зависности од малигнитета где се примењује, износи 1/8 до 1/45 ефикасности цисплатине (88). Стабилност карбоплатине има и позитивне и негативне стране, наиме има дуг ретенциони полуживот, али са друге стране 90% примењене карбоплатине се излучи урином (99).

У циљу превазилажења резистенције неоплазми на цисплатину током последњих година развијена су друга једињења која садрже платину и која имају антитуморски потенцијал. Прва генерација ових једињења заснива се на повезивању платине са неким флуоресцентним молекулом, попут цијанина. У последње време тежи се синтези комплекса платине који би садржали флуоресцентне молекуле који се синтетишу у организму. Комплекси платине са жучним киселинама показали су стабилност флуоресцентних особина, а флуоресцентност се задржава и након везивања за олигонуклеотиде или ДНК. Имајући у виду наведену чињеницу омогућено је анализирање начина везивања ових једињења за ДНК молекулу употребом различитих техника којима се детектује флуоресценција. Анализом резултата показано је да иако је циљно место везивања ових једињења једно и ДНК, начин повезивања са ДНК се ипак разликује у односу на цисплатину. У складу са наведеним податком комплекси платине са жучним киселинама испољавају већи цитотоксични потенцијал и способност да превазиђу

цитотоксични потенцијал у више туморских ћелијских линија. Штавише, у поређењу са цисплатином ефекат ових комплекса није стриктно ограничен на ћелије које циркулишу већ делују и на ћелије које су фиксне (100, 101).

Хемотерапија која подразумева комбинацију цисплатине и других антинеопластичних агенаса представља окосницу терапијских протокола великог броја малигнитета. Примарни терапијски одговор на цисплатину постоји код великог броја пацијената, међутим употреба само цисплатине у лечењу представља проблем од пацијената који болују од малигнитета резистентних на цисплатину, па би код оваквих пацијената у случају монотерапије цисплатином брзо настао релапс. Претпостављени механизми који су укључени у развој резистенције тумора на примену цисплатине укључују промене у преузимању цисплатине, као и у излучивању, повећање биотрансформације и детоксикације у јетри, повећање реперативних капацитета ДНК и повећање капацитета антиапоптозских механизма у туморским ћелијама (102). У циљу превазилажења резистенције, цисплатина се комбинује са другим хемотерапеутицима у терапијским протоколима за карциноме јајника, билијарног тракта, плућа, желуца, пљувачних жлезда, дојке, колоне, простате, меланома, панкреаса, сквамозних карцинома мушког репродуктивног система, карцинома који потичу од уротела мокраћне бешике и карцинома грлића материце.

1.4.1. Цисплатина и развој кардиотоксичности

Цисплатина реагује са пуринским базама у ДНК молекулу, везује се ковалентним везама, што представља основу у развоју токсичних ефеката цисплатине (103). Терапија цисплатином се доводи у везу са неколико различитих облика токсичности: нефротоксичност, хепатотоксичност и кардиотоксичност (104, 105). Према се кардиотоксичност углавном не наводи као уобичајени нежељени ефекат примене цисплатине, описано је више различитих поремаћаја срца везано за примену цисплатине попут: промена у ЕКГ запису, аритмија, миокардитиса, кардиомиопатије и конгестивне срчане слабости (103). Механизам настајања кардиотоксичности изазване цисплатином није довољно познат и крије велики број непознаница. Међутим, као кључни механизам за развој токсичности изазване цисплатином поједни аутори издвајају смањење

антиоксидационих капацитета, како ензимских, тако и неензимских, са једне стране, и повећање продукције реактивних врста изазвано применом цисплатине са друге стране (106).

Повећање концентрације лактат деидрогеназе и креатин киназе у плазми током примене цисплатине је последица изласка ових ензима из кардиомиоцита услед липидне пероксидације ћелијске мембране кардиомиоцита изазваних поремећајима у редокс-равнотежи услед примене цисплатине. Дегенерација и некроза срчаних мишићних влакана, уз реакцију фиброзног ткива и вакуолизацију цитоплазме кардиомиоцита и инфилтрацију крвних судова крвљу представљају доминантне карактеристике хистолошког налаза у препаратима срца оштећених цисплатином (107).

Важно је нагласити да континуирани кардиолошки надзор током трајања инфузије цисплатине није уобичајена пракса, као што то јесте случај рецимо током примене антрациклина. Због наведене чињенице изврстан број случајева кардиотоксичности изазване цисплатином прође тихо, неприметно због чега изостаје дијагностиковање и пријављивање таквих нежељених ефеката. Штавише, платина може да се детектује у плазми пацијената који су лечени цисплатином и 20 година након завршетка лечења, тако да треба имати на уму и дугорочне ефекте и токсичност који могу да се развију годинама након завршетка терапије (108).

Најчешћа манифестација кардиотоксичности изазване цисплатином је артимија, и то тахикардија, а потом брадикардија, мада се описују и други поремећаји ритма попут вентрикулских аритмија, атријалне фибрилације, синусне брадикардије, блока гране или комплетног AV блока (109-111). У клиничким случајевима везаним за тахикардију изазвану цисплатином, код пацијената је најчешће примењивана комбинација цисплатине и етопозиде (110, 112). Код појединих пацијената тахиаритмија се јављала током првих неколико минута од почетка примене цисплатине у првом циклусу хемотерапије, док се пак, код појединих пацијената јављала другим данима током другог, трећег или шестог циклуса хемотерапије (110, 112). Ни један од пацијената чији су се налази анализирали у истраживањима у којима је праћен ефекат цисплатине на срце није имао претходно срчано обољење, а тахикардија је дијагностикована услед жалби пацијената на бол у грудима, диспнеу и осећај лупања срца, након чега је одрађен ЕКГ налази и измерене вредности електролита у серуму. Током епизода тахиаритмије из сакупљених узорака серума

одређиване су вредности урее, креатинина, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} и Cl^- , пре чему су поједини аутори навели само смањење концентрације Mg^{2+} до вредности од 1,2 до 1,6 mg/dl, при чему су као физиолошке вредности навели распон од 1,7 до 2,2 mg/dl (113). Ипак, хипомагнеземија је познат нежељени ефекат примене цисплатине (114, 115). Истраживања су показала да хипомагнеземија настаје као последица директног нефротексичног ефекта цисплатине и оштећења механизма реапсорпције Mg^{2+} у дисталним сабирним каналићима, који имају кључну улогу у одржавању физиолошких концентрација Mg^{2+} . Инциденција пацијената који развијају хипомагнеземију током примене цисплатине варира у зависности од дозе и учесталости примене али се наводи да износи од 40% до 100% (115). Клиничке манифестације настале хипомагнеземије подразумевају поремећај у неуромускуларној трансмисији, које узрокују настајање тремора и атаксије, психијатријске поремећаје, што се одражава кроз конфузно стање пацијента и појаву халуцинација, и кардиотоксине манифестације, које се манифестују поремећајима у ЕКГ налазу (промене QT интервала) и аритмијама (115).

II. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

Генерални циљ

Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине (CDDP) и диетил-естра лиганда (S,S)етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил)дипропаноат-дихидрохлорида ((S,S)-Et2-eddch) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова, као и могућих механизма добијених ефеката.

Специфични циљеви

1. Испитати улогу различитих параметара оксидационог стреса: азот моноксид (NO мереног у облику нитрита (NO_2^-)), супероксид анјон радикала (O_2^-), индекса липидне пероксидације (мерен као TBARS) и водоник пероксида (H_2O_2) у насталим променама кардиодинамских параметара срчаног рада и коронарне циркулације.
2. Утврдити хистолошке промене настале услед хроничне примене цисплатине (CDDP) и диетил-естра лиганда (S,S)етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил)дипропаноат-дихидрохлорида ((S,S)-Et2-eddch) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчаном мишићу.

ХИПОТЕЗА

У поређењу са цисплатином, хронична примена етил-естра лиганда (S,S)етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил)дипропаноат дихидрохлорида и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) могу имати мање штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.

III. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Испитивана популација

У истраживању су коришћени пацови мушког пола *Wistar albino* соја, који су у тренутку укључења у студију били старости осам недеља, просечне телесне масе око 350 g.

Животиње су биле подељене у шест група, од којих су четири (4) експерименталне и две (2) контролне групе. Животиње у експерименталним групама су током четири недеље добијале интраперитонеално по једну дозу (4 mg/kg телесне масе) испитиваног једињења, док су животиње у контролним групама једном недељно добијале једнаку запремину физиолошког раствор или диметил сулфоксида (*DMSO*). Коришћене су две различите контролне групе због употребе различитих растварача (физиолошки раствор и диметил сулфоксид) за добијање адекватног раствора испитиваног једињења погодног за интраперитонеалну употребу.

Експерименталне процедуре коришћене за израду ове студије су у складу са прописаним актима (EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/ЕЕС) и принципима етике. Пре почетка студије експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора за добробит експерименталних животиња Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

3.2. Експериментални протокол

У тренутку укључења у студију све животиње су биле старе 8 недеља и њих 72 је подељено у шест (6) група по дванаест (12) животиња. Свака од група је праћена и интраперитонеално третирана одговарајућим једињењем (експерименталне групе) односно једним од контролних раствора (контролне групе) током четири недеље. Коришћене су две различите контролне група како би се елиминисао потенцијални утицај растварача, јер су сва испитивана једињења осим цисплатине била растварана у диметил сулфоксиду (*DMSO*), док је цисплатина растварана у физиолошком раствору. Два различита растварача су коришћена како би се постигла оптимална растворљивост и биорасположивост сваког од испитиваних једињења.

Контролне групе:

1. Животиње третиране физиолошким раствором (F)
2. Животиње третиране диметил сулфоксидом (DMSO)

Експерименталне групе:

1. Животиње третиране цисплатином раствореном у физиолошком раствору
2. Животиње третиране О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом раствореном у DMSO-у (L₃)
3. Животиње третиране октаедралним Pt(IV) комплексом са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом раствореним у DMSO-у (PtL₃)
4. Животиње третиране Pd(II) комплексом са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом раствореним у DMSO-у (PdL₃)

Телесна тежина је животињама одређена на почетку експерименталног протокола је животињама и потом сваки пут пре новог апликовања испитиваног једињења. На основу телесне тежине прорачунавана је доза испитиваног једињења која је примењена код сваке од животиња у експерименталним групама током четири недеље. Животиње у контролним групама су третиране једнаким запреминама физиолошког раствора или диметил сулфоксида такође зависно од телесне тежине. Све животиње су примиле укупно четири дозе испитиваног једињења или контролног раствора. Након завршеног третмана животиње су анестезиране и жртвоване како би се спровела анализа функције миокарда и коронарне циркулације употребом *Langendorff*-овог модела за изоловано срце пацова. Уз то животињама је узимана и крв за анализу системског оксидационог стреса и активности ензима антиоксидационе заштите.

3.3. Експериментални модел изолованог срца пацова

Након завршеног хроничног третмана испитиваним једињењима за испитивање функције миокарда и коронарне циркулације коришћен је *Langendorff*-ов модел изолованог срца пацова (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary*). Употребом

комбинације анестетика кетамин (10 mg/kg) и ксилазин (5 mg/kg) животиње су уведене у наркозу. Одмах по увођењу у наркозу животиње су жртвоване цервикалном дислокацијом, отворан им је грудни кош и изолована су срца. Изолована срца су одржавана у хомеостазу до постављања на апарат употребом охлађеног физиолошког раствора. Након причвршћивања асцендентне аорте концем за канилу апарата уз даљу препарацију срца омогућено је увођење сензора у леву комору срца (*Transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) како би се пратила функција срчаног мишића током промене перфузионих притисака од 40 cm до 120 cm H₂O и обратно (116). Како би препарат срца могао да функционише у спољној средини неопходна је адекватна исхрана срца која се обезбеђује употребом комплексног *Krebs-Hensenleit* перфузионог раствора. Овај раствор је по саставу сличан екстрацелуларној течности захваљујући томе се обезбеђује несметан рад срца на апарату. По постављању препарата на апарат спровођен је поступак стабилизације при константном перфузионом притиску од 60 cm H₂O. Након завршеног периода стабилизације (измерена три узастопно иста коронарна протока и стабилан срчани рад) испитиван је ауторегуларни ранг коронарне циркулације. Ауторегулаторни ранг се испитивао почевши од коронарног перфузионог притиска од 60 cm H₂O уз постепено повећање за по 20 cm H₂O до максималних 120 cm H₂O, а потом уз постепено смањење коронарног перфузионог притиска до минималних 40 cm H₂O уз још једно постепено повећање коронарног перфузионог притиска за по 20 cm H₂O до максималних 120 cm H₂O. При свакој од поменутих промена перфузионог притиска препарат је стабилизован 5 минута након чега су праћени следећи параметри леве коморе у испитиваним групама: *dp/dt max* – максимална стопа развоја притиска (mmHg/s), *dp/dt min* – минимална стопа развоја притиска (mmHg/s), *SLVP* – систолни притисак (mmHg), *DLVP* – дијастолни притисак (mmHg) и *HR* – фреквенца рада срца (bpm). Током експеримената при сваком перфузионом притиску прикупљан је коронарни венски ефлуент и мерен *CF* – коронарни проток (ml/min).

3.4. Биохемијске анализе

3.4.1. Одређивање биохемијских маркера оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту

У прикупљеном коронарном венском ефлуенту одређивани су следећи биохемијски маркери оксидационог стреса:

1. Индекс липидне пероксидације мерен као TBARS (од енгл.- *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*). За одређивање индекса липидне пероксидације користи се индиректна метода која подразумева спектрофотометријско мерење нивоа липидних пероксида насталих у реакцији малонилалдехида са тиобарбитурном киселином у присуству 0.05 M NaOH при температури од 100° C. Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у стаклену епрувету се стави 800 μ l прикупљеног ефлуента или *Krebs-Hensenleit* раствора (за слепу пробу) и 200 μ l 1% раствора тиобарбитурне киселине, након чега су се припремљени узорци петнаест минута инкубирани у воденом купатилу ($t = 100^{\circ}$ C). По завршеној инкубацији узорци су се хладили на собној температури након чега је спроведено мерење на таласној дужини $\lambda=530$ nm (117).
2. Нитрити (NO_2^-) употребом *Griess* реагенса. *Griess*-ов реагенс у реакцији са нитритима доводи до стварања диазо-комплекса карактеристичне љубичасте боје. Како би се омогућило спектрофотометријско мерење концентрације насталих комплекса неопходна је стабилизација насталих комплекса додатком амонијачног пуфера. Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епрувету се стави 1000 μ l прикупљеног ефлуента или *Krebs-Hensenleit* раствора (за слепу пробу), 250 μ l двокомпонентног *Griess*-ов реагенса (1% сулфанилна киселина и 0,1% раствор N-(1-нафтил) етилендиамин дихидрохлорид (*NEDA*)) и 125 μ l амонијачног пуфера. Мерење се спроводи на таласној дужини $\lambda=550$ nm (118).

3. Супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$) употребом нитро тетразолијум плаво хлорида *NBT* (од енгл.- *Nitro Blue Tetrazolium*). У реакцији супероксид анјон радикала и *NBT*-а настаје нитроформазан плави. Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епрувету се стави 50 μ l прикупљеног ефлуента или *Krebs-Hensenleit* раствора (за слепу пробу) и 950 μ l азотом гасиране есејне смеше (50 mM *TRIS*-HCl пуфер, 0,1 mM *EDTA*, 0,1 mg/ml желатин и 0,1 mM *NBT*). За мерење концентрације добијеног комплекса је неопходно понављање спектрофотометријског мерења на 60 секунди уз мешање пластичним штапићем испипетираног узорка до стабилизације екстинције (узастопно измерене две приближно исте екстинције) на таласној дужини $\lambda=530$ nm (119).

4. Водоник пероксид (H_2O_2) употребом фенол црвеног раствора *PRS* (од енгл.- *Phenol Red Solution*) у присуству ензима пероксидаза из коњске ротквице *HRPO* (од енгл.- *Horseshoe Radish Peroxidase*). Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епрувету се стави 200 μ l прикупљеног ефлуента или *Krebs-Hensenleit* раствора (за слепу пробу), 800 μ l *PRS* (140 mM NaCl, 10 mM KH_2PO_4 x K_2HPO_4 , 5,5 mM D(+)-глукозе и 0,28 mM *PR*-а) и 10 μ l *ex tempore* припремљеног *HRPO*. Након припреме узорка постојала је инкубација од десет минута на собној температури, након завршене инкубације подешавана је рН на око 12 употребом једномоларног раствора NaOH. Спектрофотометријском методом при таласној дужини $\lambda= 610$ nm одређиване су концентрације водоник пероксида у испитиваним узорцима (120).

3.4.2. Одређивање биохемијских маркера оксидационог стреса и ензима антиоксидационе заштите у прикупљеним узорцима крви

Непосредно након жртвовања животиња прикупљани су узорци крви за одређивање утицаја примене испитиваних једињења на нивое биохемијских маркера оксидационог стреса и ензима антиоксидационе заштите у системској циркулацији. Из прикупљених узорака крви центрифугирањем се издваја плазма у супернатанту. У узоцима плазме су одређивани нивои прооксидационих молекула (*TBARS*-а, NO_2^- , $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2) претходно описаним методама. Такође, из прикупљених узорака крви су се центрифугирањем у

талогу издвајали еритроцити, испирањем талога употребом охлађеног физиолошког раствора добијао се лизат еритроцита у којем су одређивани нивои параметара антиоксидационе заштите, као што су:

1. Каталаза (CAT) методом по Aebi (121). Код одређивања активности каталазе пре свега се испитивани лизат еритроцита разблажи дестилованом водом у односу 1:7. Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епрувету се стави 100 μl претходно разблаженог лизата еритроцита, једнака количина етанола, 50 μl CAT пуфера и 1000 μl 10mM водоник пероксида. Мерење активност каталазе се спроводи у секстету на таласној дужини $\lambda = 230 \text{ nm}$, употребом кварцне кивете и спектрофотометра.
2. Супероксид дисмутаза (SOD) епинефринском методом по Beutler-у (122). Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епрувету се стави 100 μl лизата еритроцита и 1000 μl карбонатног пуфера. Припремљени узорак се ставља на вортекс апарат, а потом се у тако измешан узорак додаје 100 μl адреналина. По додавању поменутих реагенаса у одговарајућу количину лизата еритроцита спектрофотометријски се у дупликату врши мерење на таласној дужини $\lambda = 470 \text{ nm}$.
3. Редуковани глутатион (GSH) методом по Beutler-у (123). За одређивање концентрације редукованог глутатиона се користи 5,5-дитио-бис (2-нитробензоева киселина) (DTNB) која се у присуству GSH преводи у 5-тио-бис (2-нитробензоеву киселину) (TNB). Припрема узорка за анализу се спроводила на следећи начин: у епендорфицу се стави 50 μl лизата еритроцита, 200 μl 0,1% EDTA и 385 μl преципитационог пуфера. Тако припремљени узорак се преноси на лед у трајању од 15 минута, након чега преноси на центрифугу (4000 rpm/10 мин). Одваја се 300 μl супернатанта и у њега се додаје 750 μl $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ и 100 μl DTNB. Тако припремљени узорак се даље инкубира 10 минута на собној температури, а потом се врши спектрофотометријско мерење на таласној дужини $\lambda = 420 \text{ nm}$.

3.4.3. Одређивање липидног статуса пацова

У прикупљеним узорцима плазме одређиван је липидни профил пацова након хроничног третмана испитиваним једињењима који је подразумевао одређивање нивоа: укупног холестерола, триглицерида, LDL (енгл. *Low Density Lipoprotein*) липопротеини мале густине и HDL (енгл. *High Density Lipoprotein*), липопротеини велике густине. Нивои ових молекула су одређивани колориметријски у пласзми употребом комерцијално доступних китова (*Salucea Company*, Холандија) (124).

3.4.4. Одређивање биохемијских показатеља функције бубрега пацова

Као биохемијски показатељи функције бубрега коришћени су нивои урее и креатинина:

- Ниво урее је одређен у серуму коришћењем Berthelot методе (125). Овај метод се заснива на употреби ензима уреазе који катализује хидролизу урее до амонијака и угљен диоксида. Тако настали амонијак интерагује са Berthelot реагенсом стварајући једињење плаве боје чији се интензитет одређује колориметријском методом.
- Ниво креатинина је одређен у серуму коришћењем Jaffe методе (126). Овај метод се заснива на употреби пикринске киселине која у базној средини интерагује са креатинином стварајући обојен комплекс чији се интензитет одређује колориметријском методом. За ову анализу коришћен је комерцијално доступан кит (*Pars Azmoon* кит, Техеран, Иран).

3.4.5. Одређивање биохемијских показатеља функције јетре пацова

Као биохемијски показатељи функције бубрега коришћени су нивои албумина и укупних протеина:

- Ниво албумина је одређиван употребом методе коју је описао *Doumas* са сарадницима (127). Ова метода се заснива на употреби рН индикатора бромкрезол зеленог (BCG) који има способност мењања боје од жуте до плаве у зависности од рН средине, односно концентрације албумина. За анализу је потребно 10 μ L узорка и 3 mL BCG реагенса, када се помешају реагенси, садржај се добро промења и

остави на собној температури 5 минута, након тога се врши мерење апсорбанце на таласној дужини $\lambda = 580 \text{ nm}$ (127).

- Ниво укупних протеина је одређиван употребом методе коју је описао Tietz (128). 20 μL узорка се додавало у 1 ml реагенса за одређивање укупних протеина и након 30 минута инкубације на собној температури одређивала се концентрација укупних протеина на таласној дужини $\lambda = 546 \text{ nm}$ (128).

3.5. Статистичка обрада података

За статистичку обраду резултата коришћен је статистички програм *SPSS 20.0 for Windows*:

- Параметри од значаја су представљени као средња вредност уз стандардну девијацију.
- Расподела њихове нормалности је испитана употребом *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro Wilk* теста.
- За тестирање разлика између параметара у различитим тренуцима у оквиру исте групе коришћен је тест за везане узорке (Two Related Samples Test - Wilcoxon тест)
- За тестирање разлика између параметара у различитим групама у истим тренуцима коришћени су тестови за независне узорке: код постојања две групе (Two Independent Samples Test – Mann Whitney тест), код постојања већег броја група (K Independent Samples Test – Kruskal Wallis тест).

IV. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину и биохемијске маркере пацова

4.1.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на телесну тежину животиња приказани су у Табели 4.1. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика између измерених вредности телесне тежине током прве и наредних недеља примене испитиваних једињења приказана једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Хронична интраперитонеална примена лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3) и физиолошког раствора је довела до несметаног раста животиња током експерименталног протокола (Табела 1). Са друге стране, примена свих осталих испитиваних једињења је спречила нормалан прираст у телесној тежини животиња (Табела 4.1). Наиме, примена Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K_3) и диметил сулфоксида (DMSO) није значјно утицала на промену телесне тежине животиња током четири недеље, док је примена цисплатине и Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL_3) довела до статистички значајног смањења телесне масе животиња.

Табела 4.1. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на телесну тежину животиња

Испитивано једињење	Недеља			
	I	II	III	IV
L_3	360,14 ± 37,55	368,00 ± 18,10	404,57 ± 10,49*	420,43 ± 20,07*
K_3	429,75 ± 16,34	415,50 ± 7,05	433,25 ± 12,92	413,50 ± 3,00
PdL_3	306,13 ± 15,64	278,88 ± 20,88*	260,00 ± 25,85*	254,63 ± 15,05*
DMSO	312,67 ± 23,06	308,67 ± 21,39	310,83 ± 20,18	316,67 ± 17,40
Цисплатина	374,80 ± 47,07	377,20 ± 38,96	353,40 ± 35,23*	331,80 ± 28,81*
Физиолошки раствор	319,17 ± 37,61	343,83 ± 37,84	369,67 ± 34,98*	397,33 ± 28,70*

У табели су приказане масе животиња (g) као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) током четири недеље, колико је трајао експериментални протокол. L_3 - О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат, K_3 - Pt(IV) комплекс са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, PdL_3 - Pd(II) комплекс са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, DMSO - диметил сулфоксид. Стаистички значајне разлике између масе животиња током прве и наредних недеља су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$.

4.1.2. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске маркере пацова

4.1.2.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на липидни статус пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на липидни статус животиња приказани су у Табели 4.2. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика између измерених вредности телесне тежине током прве и наредних недеља примене испитиваних једињења приказана једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Најниже вредности липида забележене су у групи третираној физиолошким раствором, док су највише вредности ових параметара забележене у групи третираној Pt(IV) комплексом са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃). Међутим, није постојала статистички значајна разлика у биохемијским маркерима липидног статуса међу третираним животињама након хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења (Табела 4.2.).

Табела 4.2. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на липидни статус животиња

Испитивано једињење	Укупни холестерол (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Триглицериди (mg/dL)
L₃	123,7±7,45	56,78±3,90	44,81 ± 5,10	86,81±7,94
K₃	126,1±9,01	61,21±4,13	43,14 ± 4,23	93,64±9,18
PdL₃	120,1±8,34	58,04±2,87	39,71 ± 4,52	90,70±9,18
DMSO	115,4±7,12	60,71±3,64	40,02 ±4,05	84,15±8,11
Цисплатина	117,5±6,11	61,39±3,14	42,99 ± 5,02	88,70±7,23
Физиолошки раствор	110±5,77	55,28±2,82	35,99 ± 2,11	81,70±7,60

У табели су приказани биохемијски маркери липидног статуса као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) током четири недеље, колико је трајао експериментални протокол. L₃ - О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат, K₃ - Pt(IV) комплекс са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, PdL₃ - Pd(II) комплекс са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, DMSO - диметил сулфоксид. Статистички значајне разлике између масе животиња током прве и наредних недеља су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$.

4.1.2.2. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције бубрега пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције бубрега животиња приказани су у Табели 4.3. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика између измерених вредности телесне тежине током прве и наредних недеља примене испитиваних једињења приказана једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Најниже вредности биохемијских показатеља функције бубрега (уреа и креатинина) забележене су у групи третираној физиолошким раствором, док су највише вредности уреа забележене у групи третираној Pt(IV) комплексом са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K_3), а пак највише вредности креатинина су забележене у групи третираној лигандом O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат (L_3). Међутим, није постојала статистички значајна разлика у биохемијским показатељима функције бубрега (уреа и креатинин) међу третираним животињама након хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења (Табела 4.3).

Табела 4.3. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције бубрега животиња

Испитивано једињење	Уреа (mg/dL)	Креатинин (mg/dL)
L₃	18,6±1,22	0,91±0,17
K₃	22,1±1,41	0,87±0,21
PdL₃	19,7±1,41	0,82±0,15
DMSO	19,1±2,04	0,71±0,11
Цисплатина	21,4±2,83	0,77±0,10
Физиолошки раствор	16,2±1,15	0,65±0,08

У табели су приказани биохемијски показатељи функције бубрега као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) током четири недеље, колико је трајао експериментални протокол. L_3 - O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат, K_3 - Pt(IV) комплекс са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, PdL_3 - Pd(II) комплекс са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, DMSO - диметил сулфоксид. Статистички значајне разлике између масе животиња током прве и наредних недеља су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$.

4.1.2.3. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције јетре пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције јетре животиња приказани су у Табели 4.4. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика између измерених вредности телесне тежине током прве и наредних недеља примене испитиваних једињења приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Најниже вредности биохемијских показатеља функције јетре (укупни протеини и албумини) забележене су у групи третираној физиолошким раствором, док су највише вредности укупних протеина забележене у групи третираној цисплатином, а пак највише вредности албумина су забележене у групи третираној лигандом *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат (L_3). Међутим, није постојала статистички значајна разлика у биохемијским показатељима функције јетре (укупни протеини и албумини) међу третираним животињама након хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења (Табела 4.4).

Табела 4.4. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене испитиваних једињења на биохемијске показатеље функције јетре животиња

Испитивано једињење	Укупни протеини (g/dL)	Албумини (g/dL)
L_3	6,0±0,41	5,1±0,62
K_3	7,1±0,72	4,9±0,60
PdL_3	6,8±0,64	4,4±0,52
DMSO	6,4±1,08	4,8±0,85
Цисплатина	7,2±0,83	5,0±0,71
Физиолошки раствор	5,6±0,72	4,0±0,55

У табели су приказани биохемијски показатељи функције јетре као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) током четири недеље, колико је трајао експериментални протокол. L_3 - *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат, K_3 - *Pt(IV)* комплекс са *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, PdL_3 - *Pd(II)* комплекс са *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом, DMSO - диметил сулфоксид. Статистички значајне разлике између масе животиња током прве и наредних недеља су одређене *Wilcoxon*-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$.

4.2. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

4.2.1. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова у контролним и експерименталним условима приказани су у Табели 4.5. и на Графику 1. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

Табела 4.5. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	K	E	K	E	K	E
40	1449,5±161,5	1449,5±161,5	-834,3±129,2	-834,4±129,2	38,1±7,1	38,1±7,1
60	1373,1±193,6	1583,7±245,0	-888,0±155,4	-1051,4±189,5	38,0±6,5	43,6±8,1
80	1505,9±278,0	1741,2±305,3	-1017,5±139,5	-1145,0±140,4	42,7±5,0	47,3±7,0
100	1691,9±232,7	1754,3±235,8	-1082,2±137,6	-1123,3±137,2	46,6±3,8	47,2±6,2
120	1867,3±301,8	1843,0±305,5	-1176,0±222,9	-1187,7±145,2	51,4±8,3	18,3±4,6
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	K	E	K	E	K	E
40	1,9±0,4	1,9±0,4	263,4±22,53	263,4±22,5	7,0±1,0	7,0±1,0
60	1,9±0,4	1,8±0,5	278,6±27,1	273,2±19,8	9,0±0,8	8,7±0,3
80	2,3±0,4	1,7±0,6	283,0±26,2	278,4±27,2	11,0±1,7	11,1±1,3
100	2,7±0,7	1,8±0,6	285,1±35,6	285,0±24,7	13,0±2,1	13,2±2,1
120	2,6±0,9	1,8±0,7	288,8±37,3	288,1±29,3	14,6±3,0	14,7±2,8

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (K) и експерименталним (E) условима. dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, SLVP – систолни притисак, DLVP – дијастолни притисак, HR – фреквенца рада срца, CF – коронарни проток

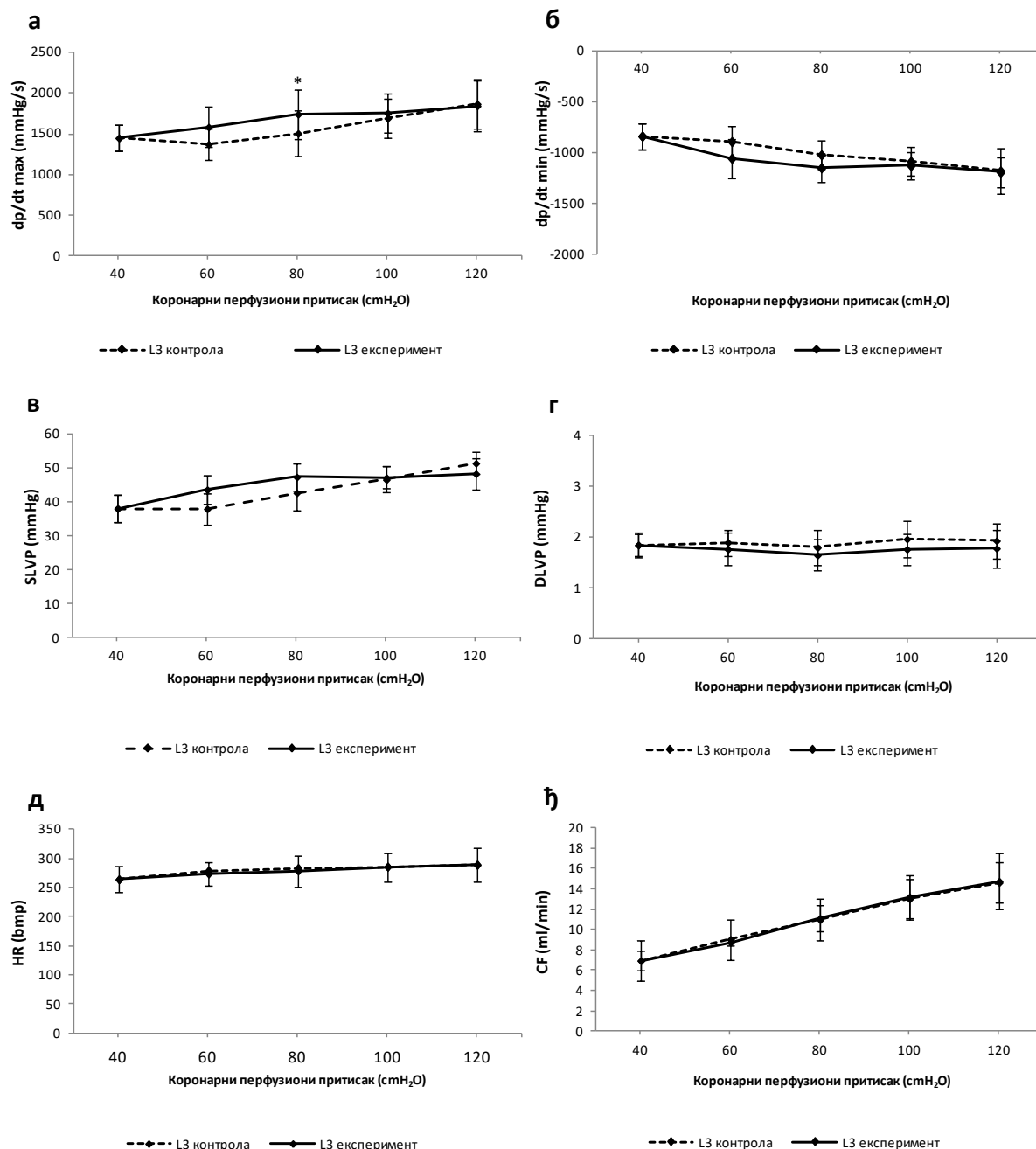


График 1. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, д) HR – фреквенца рада срца, е) CF – коронарни проток. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

Статистички значајне разлике након хроничне примене О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата између контролних и експерименталних услова су забележене само код максималне стопе промене притиска у левој комори и то у нормоксичним условима (CPP =80 cmH₂O) (График 1а). Остали кардиодинамски параметри као и коронарни проток се нису значајно разликовали након хроничне примене О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата током контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 1 б-ђ).

4.2.1.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L3) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

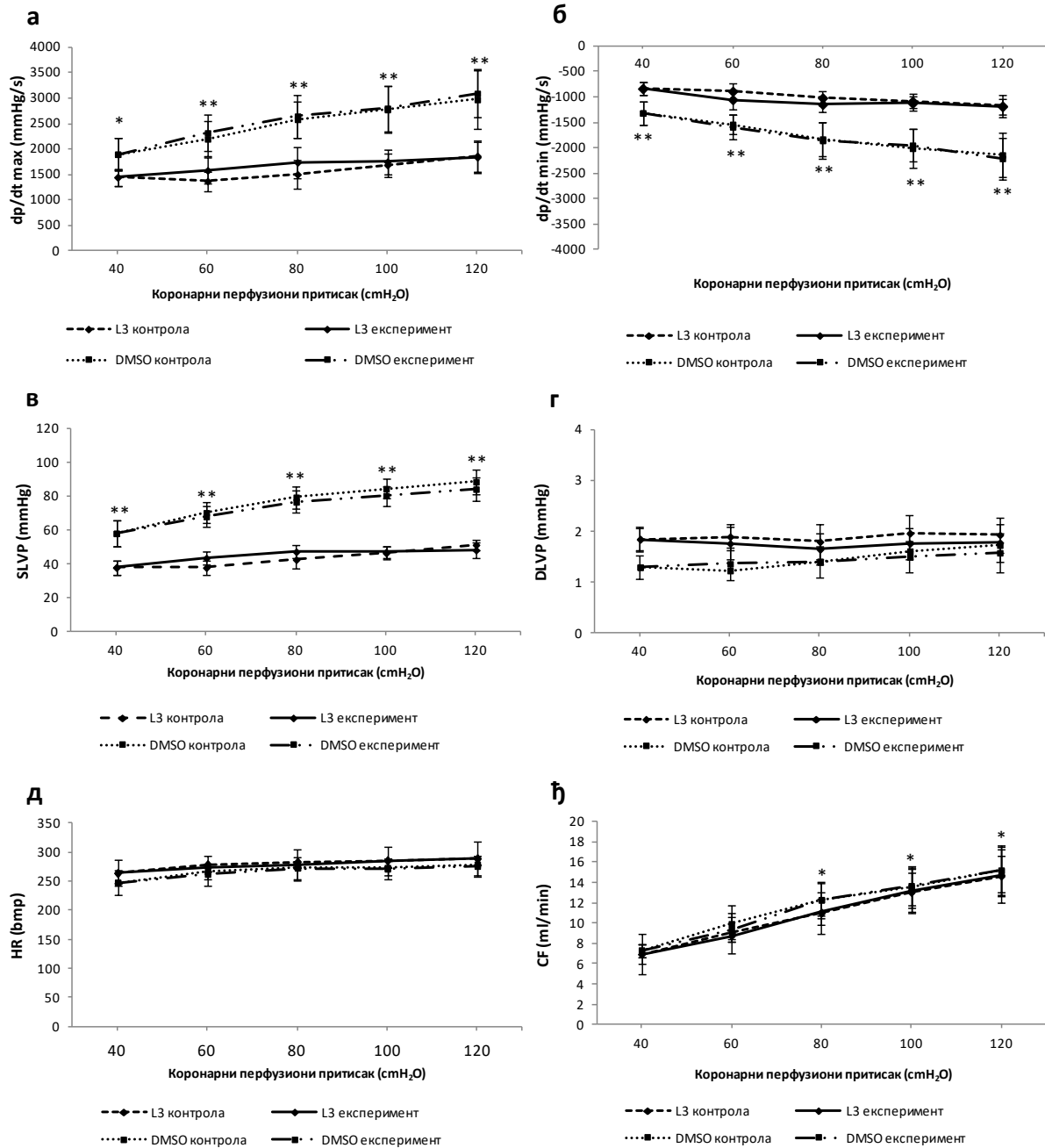


График 2. Поређење ефекта хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) $SLVP$ – систолни притисак, г) $DLVP$ – дијастолни притисак, з) HR – фреквенца рада срца, д) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група у контролним и експерименталним услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.*

Разлике у ефектима након хроничне примене лиганда O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и диметил сулфоксида на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова су приказане на Графику 2 а-ђ. Статистички високо значајна разлика између поређених група је постојала при свим коронарним перфузионим притисцима ($CDDP$ 40-120 cmH_2O) код максималне и минималне стопе промене притиска и систолног притиска у левој комори како у контролним тако и у експерименталним условима (График 2а, График 2б, График 2в). Остали кардиодинамски параметри се нису значајно разликовали између поређених група без обзира на промену коронарног перфузионог притиска како у контролним тако и у експерименталним условима (График 2г и График 2д). Вредности коронарног протока су се значајно разликовале између посматраних група при нормоксичним ($CDDP=80$ cmH_2O) и хипероксичним условима ($CDDP$ 100-120 cmH_2O) како у контролним тако и у експерименталним условима (График 2ђ).

4.2.2. Утицај хроничне адиминистрације октахедралног $Pt(IV)$ комплекса са O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K_3) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене октахедралног $Pt(IV)$ комплекса са O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова у контролним и експерименталним условима приказани су у Табели 4.6. и на Графику 3. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Статистички значајне разлике након хроничне примене октахедралног $Pt(IV)$ комплекса са O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноат

дихидрохлоридом између контролних и експерименталних услова су забележене у хипероксичним условима (CPP =100 cmH₂O) код систолног притиска и срчане фреквенце (График 3в и График 3д) и у нормоксичним условима (CPP =80 cmH₂O) код коронарног протока (График 3ђ). Остали кардиодинамски параметри се нису значајно разликовали након хроничне примене октаедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом током контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 3а, График 3б и График 3г).

Табела 4.6. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене октаедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	K	E	K	E	K	E
40	1478,7±214,3	1478,7±214,3	-967,4±215,0	-967,4±215,0	42,9±7,1	42,9±7,1
60	1806,6±10,0	1888,8±268,7	-1342,4±158,6	-1234,1±263,3	51,5±7,7	50,3±8,6
80	2040,4±75,3	2186,9±215,4	-1426,3±287,8	-1461,2±349,8	56,7±8,5	57,6±9,5
100	2234,0±204,0	2267,5±146,4	-1553,4±324,8	-1497,3±305,1	61,8±10,5	59,2±12,0
120	2395,3±252,7	2381,3±206,6	-1611,0±329,7	-1529,7±309,0	67,6±18,5	62,1±11,8
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	K	E	K	E	K	E
40	2,0±1,2	2,0±1,2	279,2±26,0	279,2±26,0	7,8±1,1	7,8±1,1
60	2,2±1,1	2,1±1,2	308,1±18,5	288,3±19,0	10,5±1,6	10,1±1,2
80	2,4±1,3	2,2±1,2	310,7±17,7	292,2±25,8	12,4±2,2	13,1±2,3
100	2,8±1,3	2,6±1,1	305,1±34,0	302,4±23,3	14,6±2,8	14,6±3,1
120	2,5±1,3	2,6±1,2	298,7±32,0	298,8±23,1	16,9±3,6	16,5±3,0

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (K) и експерименталним (E) условима. dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, SLVP – систолни притисак, DLVP – дијастолни притисак, HR – фреквенца рада срца, CF – коронарни проток

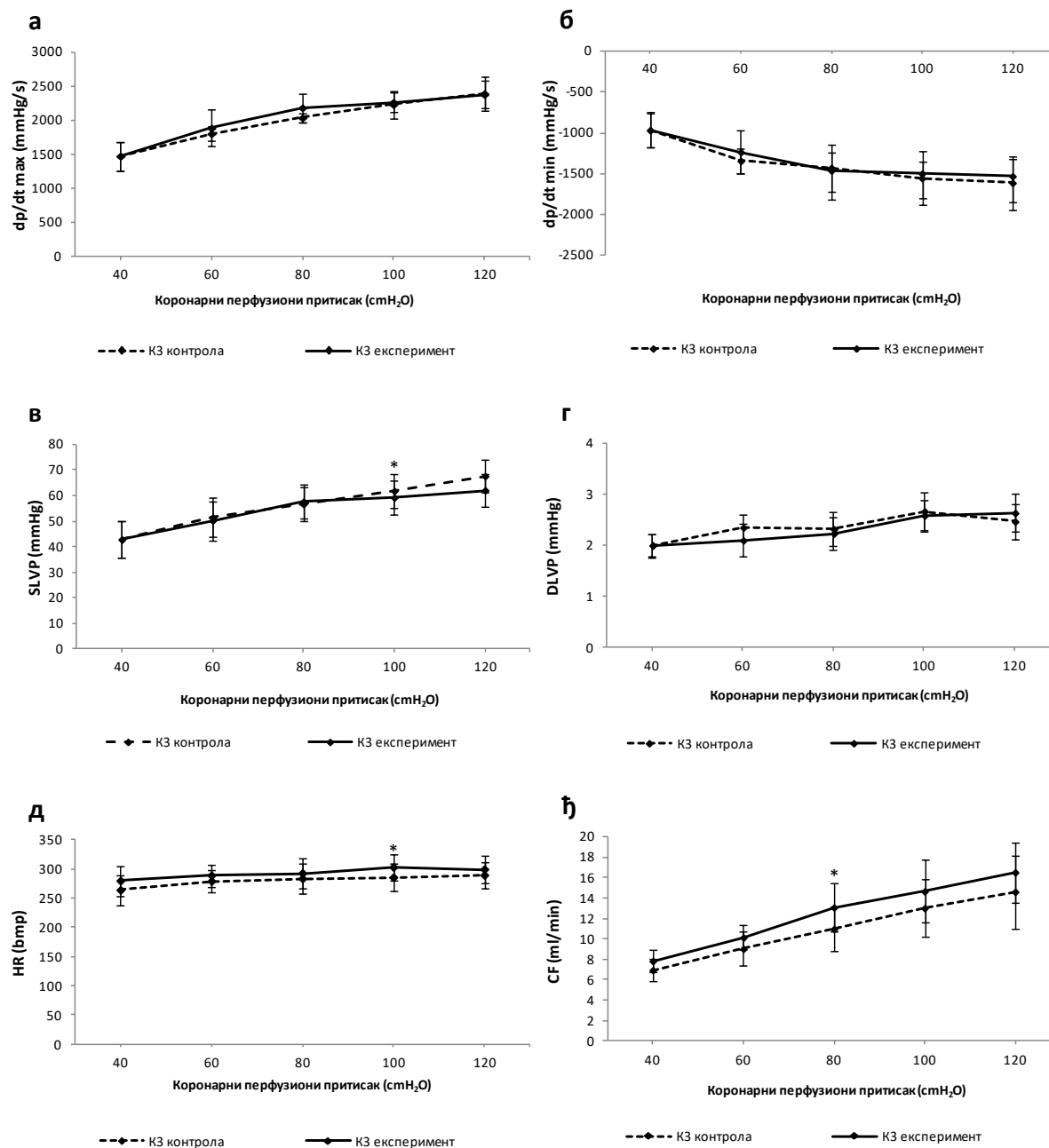


График 3. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлориом (К₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, д) HR – фреквенца рада срца, е) CF – коронарни проток. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

4.2.2.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (К3) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

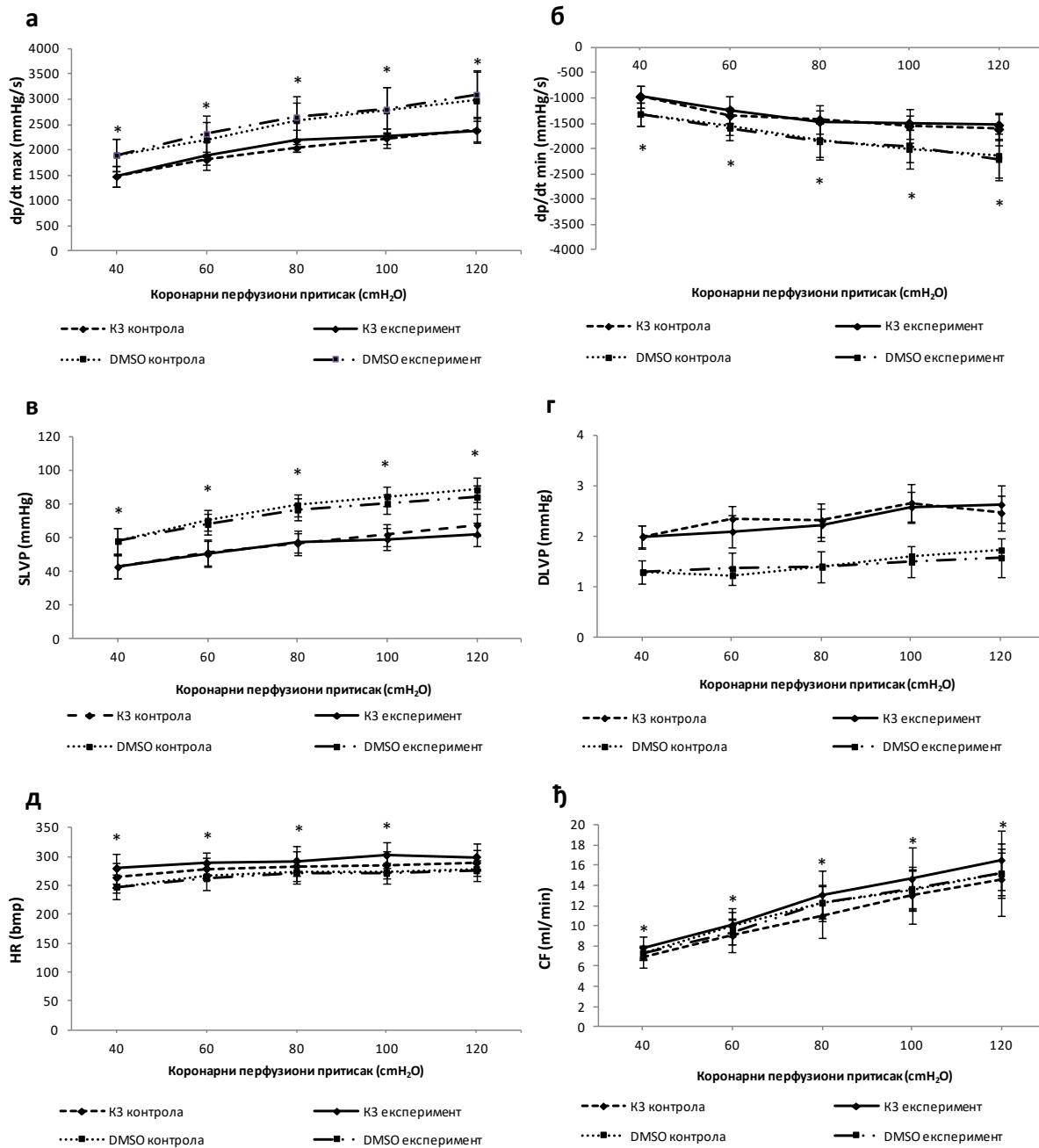


График 4. Поређење ефекта хроничне интраперитонеалне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат

дихидрохлоридом (K_3) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) $SLVP$ – систолни притисак, г) $DLVP$ – дијастолни притисак, з) HR – фреквенца рада срца, д) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група у контролним и експерименталним услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$*

Разлике у ефектима након хроничне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом и диметил сулфоксида на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова су приказане на Графику 4. Статистички значајна разлика између поређених група је постојала при свим коронарним перфузионим притисцима (CDDP 40-120 cmH₂O) код максималне и минималне стопе промене притиска (График 4а и График 4б), систолног притиска у левој комори (График 4в) и коронарног протока (График 4ђ) како у контролним тако и у експерименталним условима. Срчана фреквенца се такође значајно разликовала у посматраним групама при готово свим перфузионим притисцима (CDDP 40-100 cmH₂O) (График 4д).

4.2.3. Утицај хроничне адиминистрације Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова у контролним и експерименталним условима приказани су у Табели 4.7. и на Графику 5. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Статистички значајне разлике након хроничне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом

између контролних и експерименталних услова нису забележене без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 5 а-ђ).

Табела 7. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	K	E	K	E	K	E
40	951,3±252,9	951,3±252,9	-688,4±176,3	-688,4±176,3	36,4±9,1	36,4±9,1
60	935,5±257,7	1112,2±275,9	-657,1±183,3	-865,3±223,9	36,4±9,9	42,4±9,3
80	1033,5±168,6	1189,0±324,3	-727,5±148,6	-854,0±292,6	44,9±10,4	42,2±10,5
100	1153,4±252,1	1274,3±316,1	-864,7±198,9	-967,5±265,9	42,8±9,7	46,3±12,0
120	1259,2±336,2	1383,0±272,7	-919,9±230,2	-965,8±258,6	47,2±12,0	48,0±9,0
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	K	E	K	E	K	E
40	1,3±0,9	1,3±0,9	202,1±37,4	202,1±37,4	5,6±0,4	5,6±0,4
60	1,4±0,9	1,3±0,8	230,5±50,6	213,3±34,4	6,7±0,7	7,0±0,6
80	1,2±0,9	1,3±0,8	224,1±40,7	220,2±36,1	7,5±1,1	8,0±0,6
100	1,2±1,0	1,4±0,9	223,8±38,0	218,1±35,1	9,1±1,3	9,3±1,0
120	0,9±0,8	1,3±0,8	221,7±30,2	228,0±33,0	11,5±3,1	10,9±2,0

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (K) и експерименталним (E) условима. dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, SLVP – систолни притисак, DLVP – дијастолни притисак, HR – фреквенца рада срца, CF – коронарни проток

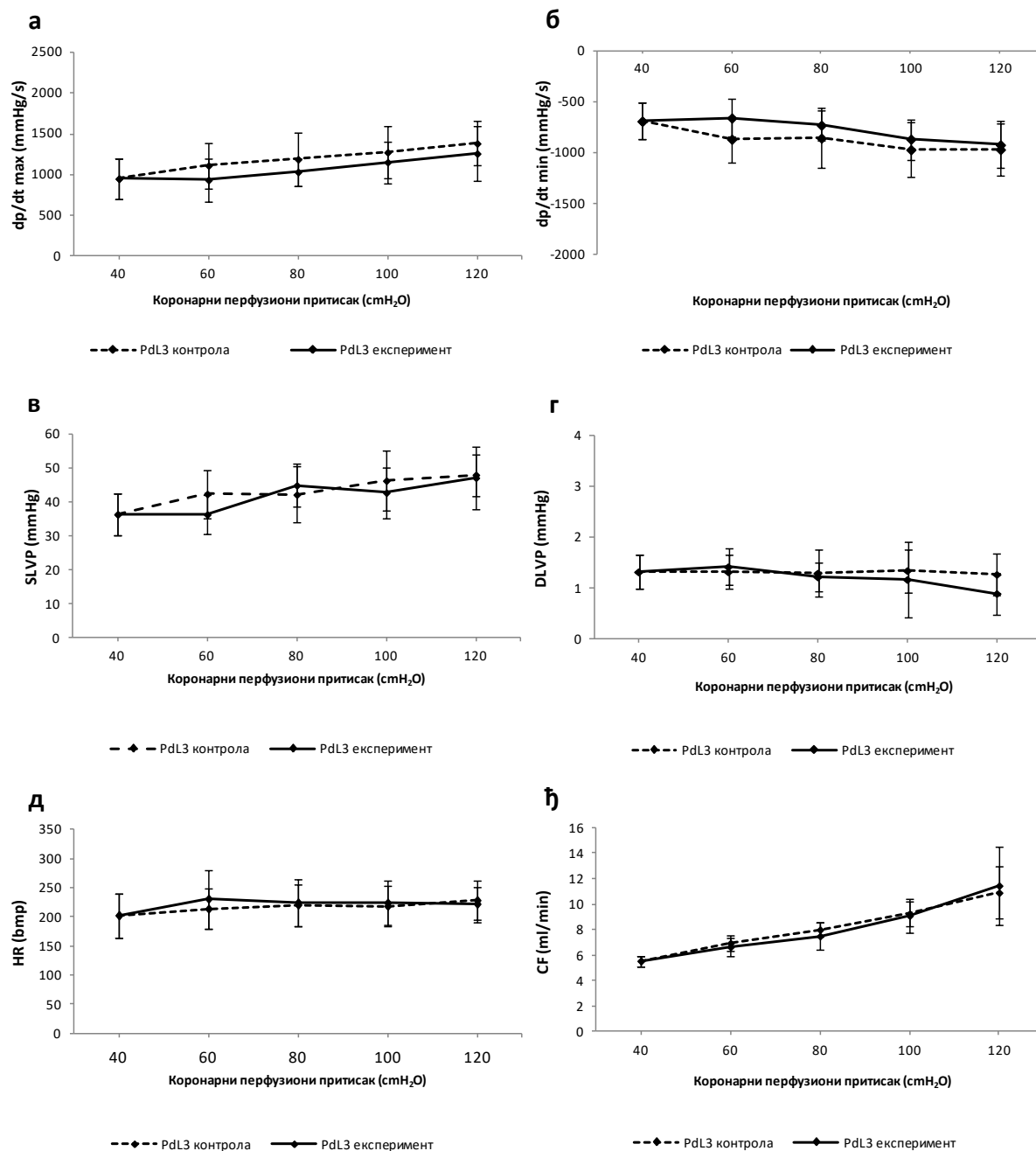


График 5. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, д) HR – фреквенца рада срца, е) CF – коронарни проток. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

4.2.3.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације Pd(II) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

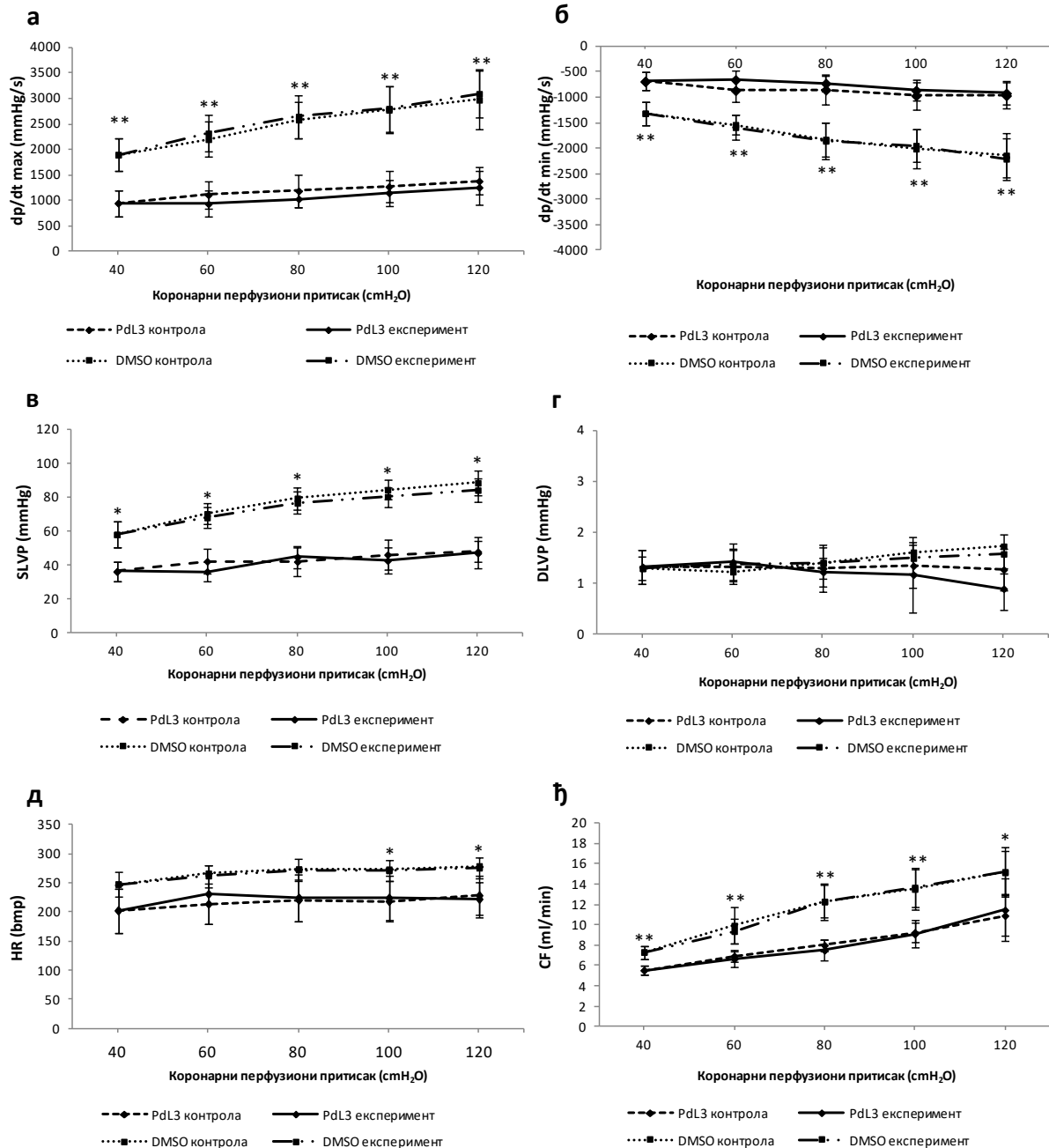


График 6. Поређење ефекта хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидро-хлоридом (PdL₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

a) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) $SLVP$ – систолни притисак, г) $DLVP$ – дијастолни притисак, з) HR – фреквенца рада срца, д) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група у контролним и експерименталним услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$*

Разлике у ефектима након хроничне примене Pd(II) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлорид и диметил сулфоксида на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова су приказане на Графику 6. Статистички високо значајна разлика између поређених група је постојала при свим коронарним перфузионим притисцима (CDDP 40-120 cmH₂O) код максималне и минималне стопе промене притиска (График 6а и График 6б), и коронарног протока (График 6ђ) како у контролним тако и у експерименталним условима. Са друге стране, значајна разлика је постојала у вредностима систолног притиска у левој комори између посматраних група при свим коронарним перфузионим притисцима (CDDP 40-100 cmH₂O) (График 6в). Док се срчана фреквенца између посматраних група значајно разликовала у хипероксичним условима (CDDP 100-120 cmH₂O) (График 6д).

4.2.4. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Разлике у оствареним ефектима лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова приказане су на Графику 7. Вредности максималне стопа промене притиска у левој комори ($dp/dt \max$) су се значајно разликовала између посматраних група (График 7а). Највише вредности овог параметра остварене су у групи третираној са платинским комплексом (K₃), док су најниже вредности остварене у групи третираној паладијумовим комплексом (PdL₃) (График 7а). Вредности $dp/dt \max$ су статистички високо значајно биле веће у групи третираној платинским комплексом (K₃) у односу на групе третиране лигандом (L₃) и

паладијумовим комплексом (PdL₃) при готово свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =60-120 cmH₂O). Док је вредност dp/dt max статистички значајно била већа у групи третираној лигандом (L₃) у односу на групу третирану паладијумовим комплексом (PdL₃) при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP =40-120 cmH₂O) (График 7а).

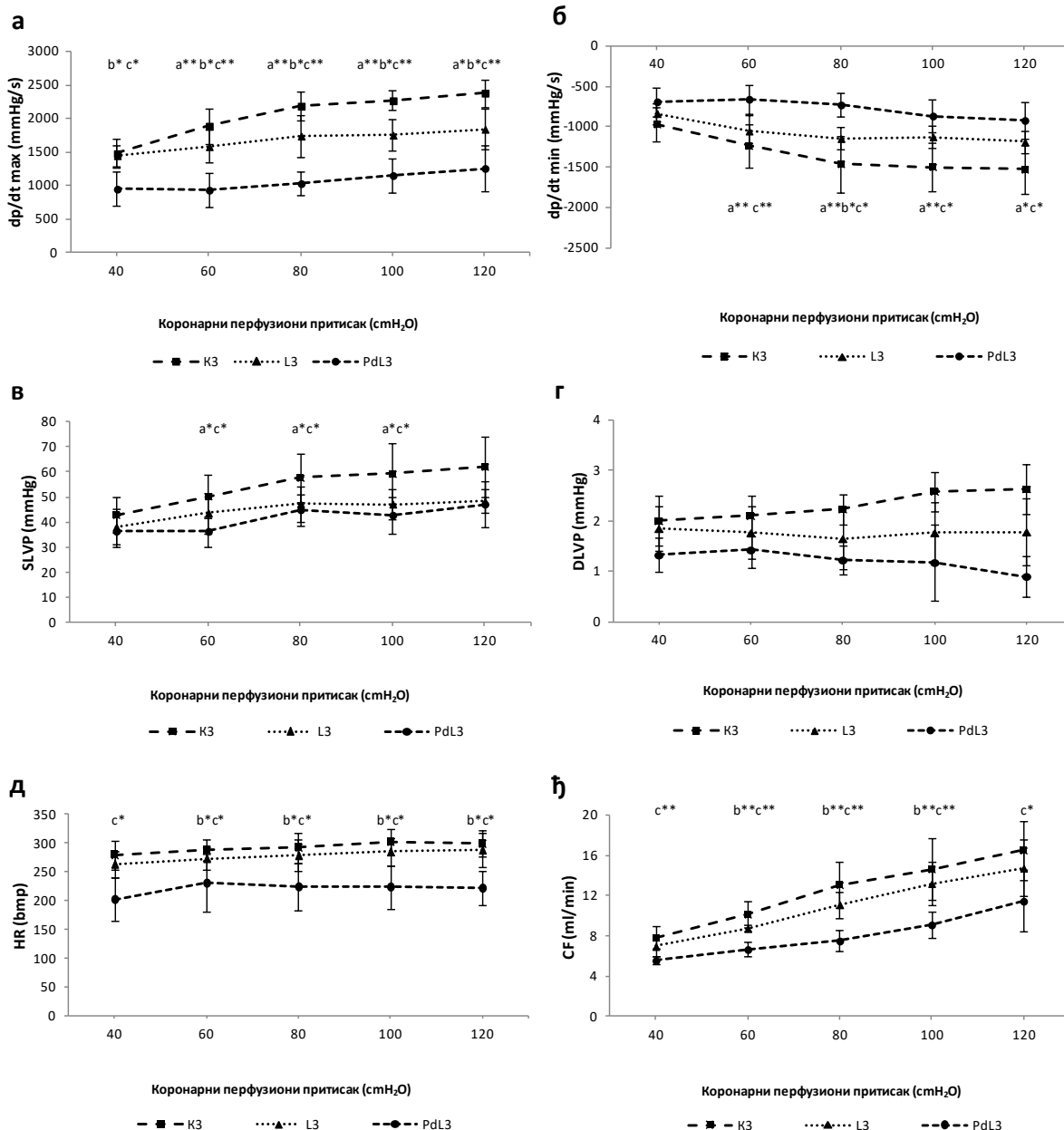


График 7. Поређење ефекта хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом

[PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

а) dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, б) dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, з) HR – фреквенца рада срца, д) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је p<0,05, односно са две звездице (***) уколико је p<0,01; а - L₃ vs. K₃, б - L₃ vs. PdL₃; с - K₃ vs. PdL₃.*

Вредности минималне стопе промене притиска у левој комори (dp/dt min) су биле статистички значајно веће у групи третираној платинским комплексом (K₃) у односу на групе третиране лигандом (L₃) и паладијумовим комплексом (PdL₃) при готово свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =60-120 cmH₂O) (График 7б). Док је вредност dp/dt min статистички значајно била већа у групи третираној лигандом (L₃) у односу на групу третирану паладијумовим комплексом (PdL₃) само у нормоксичним условима (CPP =80 cmH₂O) (График 7б). За разлику од вредности максималне и минималне стопе промене притиска у левој комори, вредности систолног притиска (SLVP) се нису тако значајно разликовале међу посматраним групама (График 7в). Вредности SLVP су биле статистички значајно веће у групи третираној платинским комплексом (K₃) у односу на групе третиране лигандом (L₃) и паладијумовим комплексом (PdL₃) у нормоксичним и благо хипероксичним условима (CPP =60-100 cmH₂O) (График 7в). Вредности SLVP се нису статистички значајно разликовале између групе третиране лигандом (L₃) и групе третиране паладијумовим комплексом (PdL₃) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP =40-120 cmH₂O) (График 7в). Вредности дијастолног притиска (DLVP) се нису статистички значајно разликовале након хроничне примене поменутих једињења без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP =40-120 cmH₂O) (График 7г). Вредности срчане фреквенце (HR) су биле статистички значајно ниже у групи третираној паладијумовим комплексом (PdL₃) у односу на групе третиране лигандом (L₃) и платинским комплексом (K₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =40-120 cmH₂O) (График 7д). Са друге стране вредности срчане фреквенце (HR) се нису статистички значајно разликовале између групе третиране лигандом (L₃) и групе третиране платинским комплексом (K₃), без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP =40-120 cmH₂O) (График 7д). Вредности коронарног протока су такође биле најниже у групи третираној паладијумовим комплексом (PdL₃). Вредности коронарног протока су у овој групи биле статистички

значајно ниже него у групи третираној лигандом (L_3) при готово свим коронарним перфузионим притисцима ($CPP = 60-100 \text{ cmH}_2\text{O}$) (График 7ђ). Са друге стране вредности коронарног протока су се статистички значајно разликовале при свим коронарним перфузионим притисцима ($CPP = 40-120 \text{ cmH}_2\text{O}$) између групе третиране платинским (K_3) и групе третиране паладијумовим комплексом (PdL_3) (График 7ђ). Није било статистички значајне разлике у вредностим коронарног протока између групе третиране лигандом (L_3) и групе третиране платинским комплексом (K_3), без обзира на промену коронарног перфузионог притиска ($CPP = 40-120 \text{ cmH}_2\text{O}$) (График 7ђ).

4.3. Утицај хроничне адиминистрације цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова у контролним и експерименталним условима приказани су у Табели 4.8. и на Графику 8. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

Статистички значајне разлике након хроничне примене цисплатине између контролних и експерименталних услова су забележене само код максималне стопе промене притиска у левој комори и то у нормоксичним условима ($CPP = 80 \text{ cmH}_2\text{O}$) (График 8а). Остали кардиодинамски параметри и коронарни проток се нису значајно разликовали након хроничне примене цисплатине током контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 8 б-ђ).

Табела 4.8. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток

CPP	dp/dt max (mmHg/s)		dp/dt min (mmHg/s)		SLVP (mmHg)	
	К	Е	К	Е	К	Е
40	2123,8±436,0	2123,8±436,0	-1263,4±308,2	-1263,4±308,2	57,0±11,5	57,0±11,5
60	2297,9±385,4	2453,1±420,5	-1528,0±493,0	-1546,3±289,5	63,5±9,9	67,1±13,1
80	2652,5±378,6	2922,6±285,6	-1788,0±553,0	-1884,5±231,1	75,6±9,8	75,0±6,5
100	2899,5±440,8	2958,6±483,4	-1904,9±270,8	-2000,5±141,2	80,6±8,3	80,2±4,3
120	2938,7±330,9	2845,8±630,8	-1936,6±306,0	-2258,0±370,6	80,0±6,8	78,1±11,1
CPP	DLVP (mmHg)		HR (bpm)		CF (ml/min)	
	К	Е	К	Е	К	Е
40	1,0±0,7	1,0±0,7	264,4±40,8	264,4±40,8	6,9±1,2	6,9±1,2
60	1,3±0,9	1,1±0,7	280,9±45,6	268,6±39,2	9,2±1,7	8,7±1,3
80	1,5±0,9	1,2±0,6	282,1±43,4	265,0±47,8	10,4±1,9	10,2±1,8
100	1,7±1,2	1,4±0,5	280,0±21,3	267,0±26,1	12,1±2,3	11,4±2,3
120	1,7±1,0	1,4±0,4	283,6±31,2	261,8±21,9	13,5±2,5	13,2±2,7

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (К) и експерименталним (Е) условима. dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, SLVP – систолни притисак, DLVP – дијастолни притисак, HR – фреквенца рада срца, CF – коронарни проток

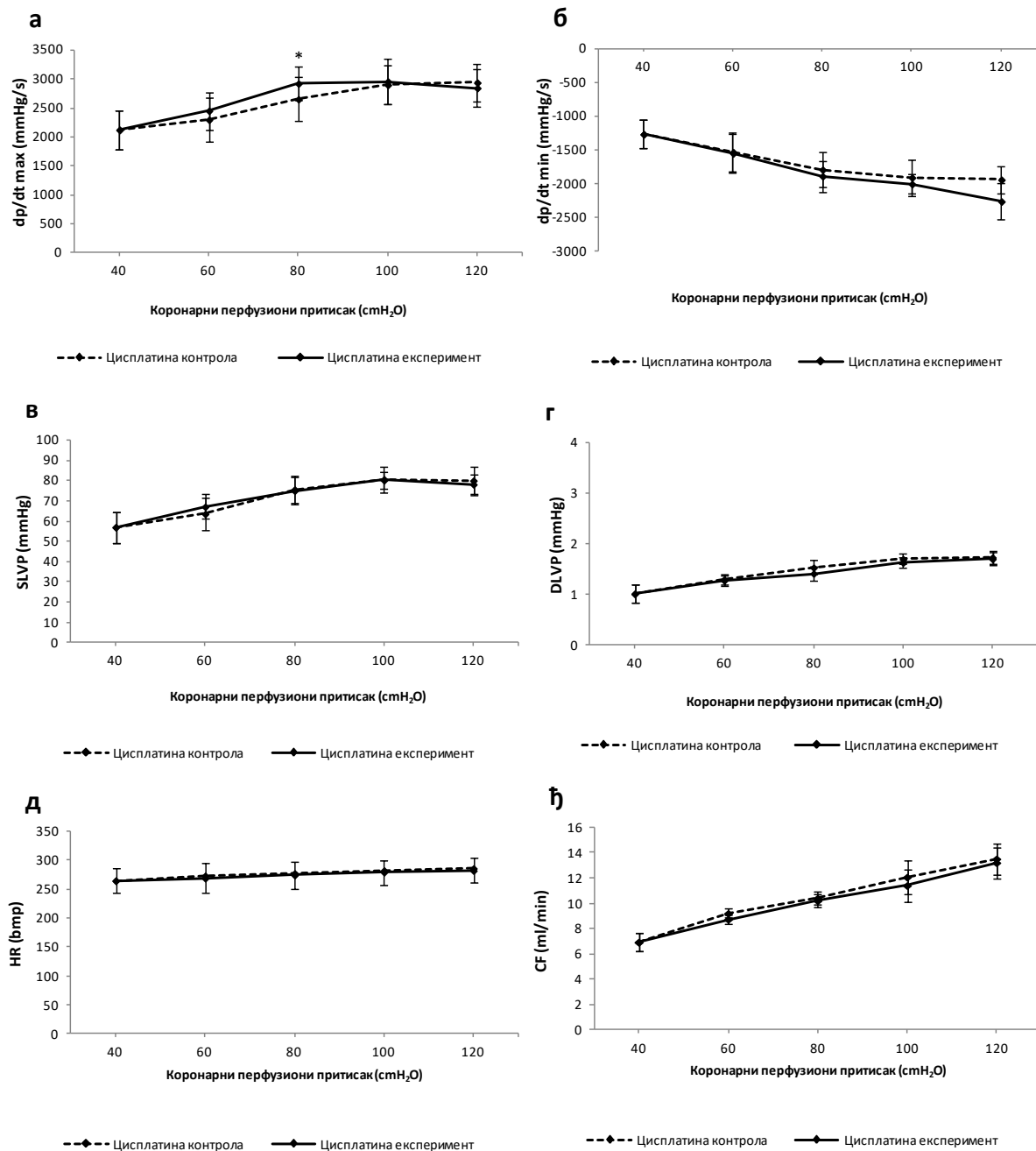


График 8. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) $SLVP$ – систолни притисак, г) $DLVP$ – дијастолни притисак, д) HR – фреквенца рада срца, е) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

4.3.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

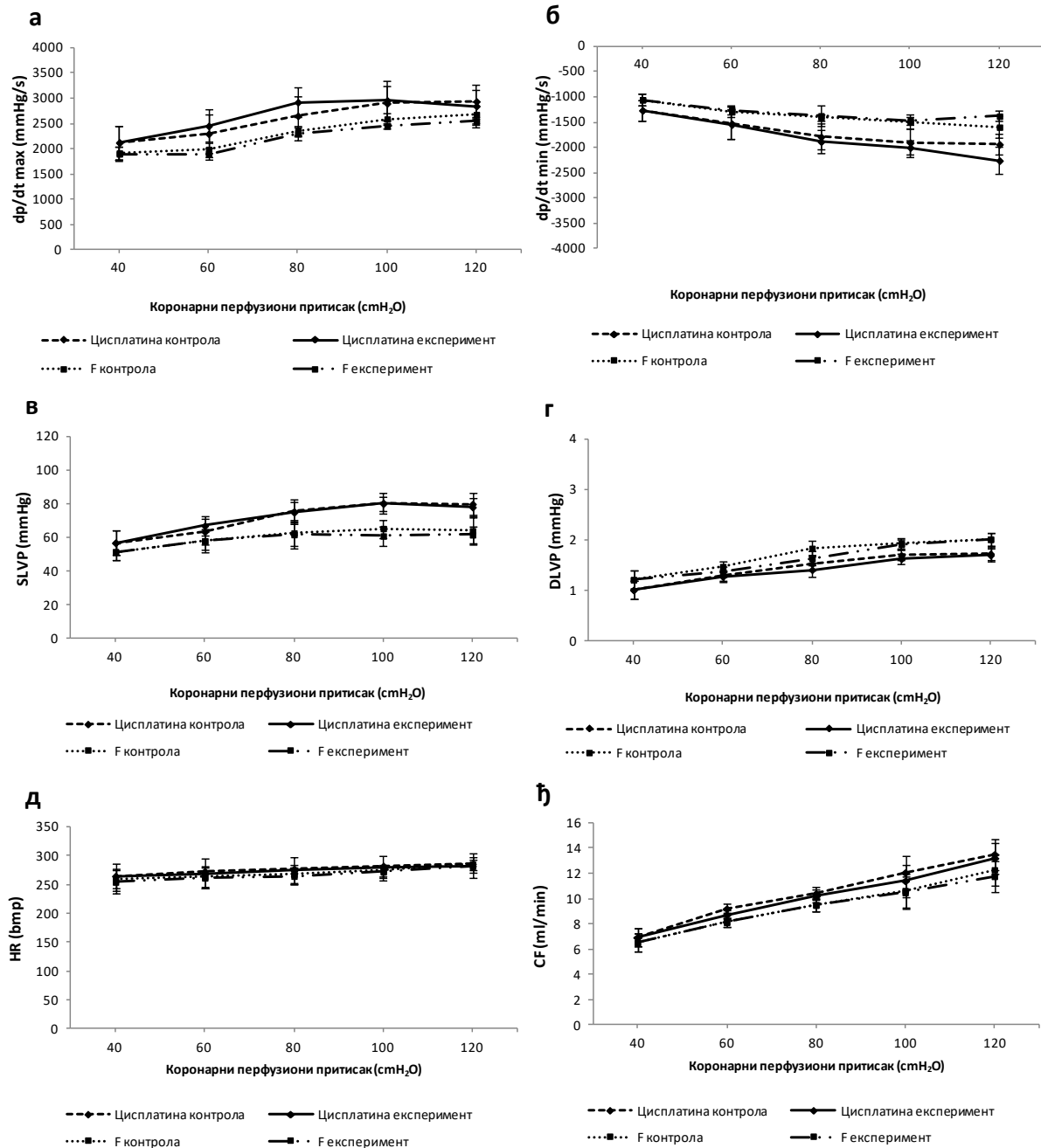


График 9. Поређење ефекта хроничне интраперитонеалне примене цисплатине и физиолошког раствора (F) на кардиодинамске параметре и коронарни проток

а) $dp/dt \max$ – максимална стопа развоја притиска, б) $dp/dt \min$ – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, д) HR – фреквенца рада срца, е) CF –

коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група у контролним и експерименталним услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

Разлике у ефектима након хроничне примене цисплатине и физиолошког раствора на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова су приказане на Графику 9. Статистички значајна разлика у вредностима кардиодинамских параметара и коронарног протока између поређених група није постојала без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CDDP 40-120 cmH₂O) (График 9 а-ђ).

4.4. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Разлике у оствареним ефектима на кардиодинамске параметре цисплатине, лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова приказане су на Графику 10. Вредности максималне стопе промене притиска у левој комори (dp/dt max) су статистички значајно биле више у групи третираној цисплатином у односу на групе третиране лигандом (L₃), платинским (K₃) и паладијумовим комплексом (PdL₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =40-120 cmH₂O) (График 10а). Вредности минималне стопе промене притиска у левој комори (dp/dt min) су статистички биле значајно веће у групи третираној цисплатином у односу на групе третиране лигандом (L₃) и паладијумовим комплексом (PdL₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =40-120 cmH₂O), док су у односу на групу третирану платинским комплексом (K₃) биле при неким коронарним перфузионим притисцима (CPP =60-100 cmH₂O) (График 10б). Систолни притисак (SLVP) је слично као и код претходна два параметра био највиши у групи третираној цисплатином при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP =40-120 cmH₂O) (График 10в). Вредности дијастолног притиска (DLVP) су биле статистички значајно ниже у групи третираној

цисплатином него у групама третираним лигандом (L_3) у хипоксичним условима ($CPP = 40$ cmH_2O) и платинским комплексом (K_3) у нормоксичним и благо хипероксичним условима ($CPP = 60$ и 100 cmH_2O) (График 10г). Вредности срчане фреквенце (HR) су биле статистички значајно ниже у групи третираној цисплатином него у групи третираној платинским комплексом (K_3) у хипероксичним условима ($CPP = 120$ cmH_2O) ($CPP = 100-120$ cmH_2O) (График 10д).

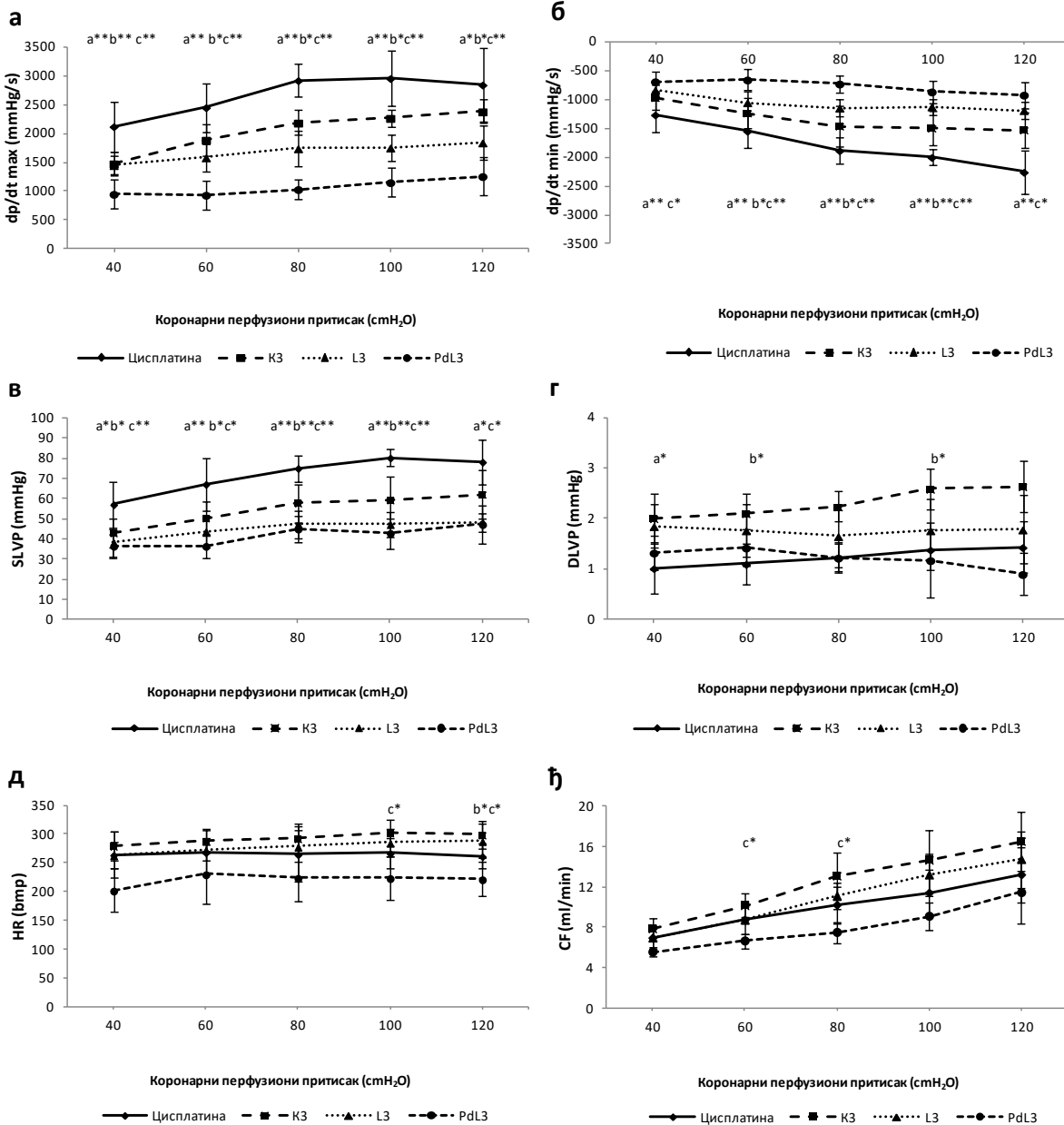


График 10. Поређење ефекта хроничне адиминистрације лиганда O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3) и његових комплекса са

четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

a) dp/dt max – максимална стопа развоја притиска, б) dp/dt min – минимална стопа развоја притиска, в) SLVP – систолни притисак, г) DLVP – дијастолни притисак, з) HR – фреквенца рада срца, д) CF – коронарни проток. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01; a – цисплатина vs. L₃, b – цисплатина vs. K₃; c – цисплатина vs. PdL₃.*

Док су са друге стране вредности HR у групи третираној цисплатином биле статистички значајно више у него у групи третираној паладијумовим комплексом (PdL₃) у хипероксичним условима (CPP =100-120 cmH₂O) (График 10д). Вредности коронарног протока (CF) су биле статистички значајно веће у групи третираној цисплатином у односу на групу третирану паладијумовим комплексом (PdL₃) у нормоксичним условима (CPP =60-80 cmH₂O) (График 10ђ). Вредности коронарног протока у преостале две групе се нису значајно разликовале од вредности коронарног протока у групи третираној цисплатином без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP =40-120 cmH₂O) (График 10ђ).

4.5. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

4.5.1. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту у контролним и експерименталним условима у ефлуенту приказани су у Табели 4.9. и на Графику 11. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

Статистички значајне разлике након хроничне примене О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата између контролних и експерименталних услова су забележене само код супероксид анјон радикала и то у нормоксичним и иразито хипероксичним условима (CPP =60 и 120 cmH₂O) (График 11а). Вредности осталих параметара оксидационог стреса у ефлуенту се нису значајно разликовали након хроничне примене О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата током контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 11 б-г).

Табела 4.9. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

CPP	O ₂ ⁻ (nmol/min/gwt)		H ₂ O ₂ (nmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	52,66 ± 20,26	52,66 ± 20,26	25,07 ± 6,76	25,07 ± 6,76
60	24,11 ± 12,87	40,69 ± 14,07	31,81 ± 5,33	33,10 ± 1,97
80	58,08 ± 27,44	52,79 ± 20,54	39,03 ± 6,44	41,20 ± 6,83
100	48,18 ± 16,49	60,16 ± 19,44	46,04 ± 10,60	47,21 ± 6,96
120	42,86 ± 16,45	83,64 ± 29,34	55,65 ± 8,96	54,03 ± 9,36
CPP	NO ₂ ⁻ (nmol/min/gwt)		TBARS (μmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	77,74 ± 20,21	77,74 ± 20,21	7,41 ± 2,27	7,41 ± 2,27
60	107,72 ± 8,06	107,73 ± 16,61	11,30 ± 3,75	10,54 ± 3,87
80	132,02 ± 17,31	133,23 ± 17,13	13,41 ± 3,38	13,28 ± 3,57
100	154,78 ± 20,42	155,48 ± 24,80	13,87 ± 2,94	16,35 ± 2,26
120	162,41 ± 21,60	178,58 ± 29,06	15,92 ± 5,21	14,95 ± 3,93

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију (X±SD) у контролним (К) и експерименталним (Е) условима. O₂⁻ - супероксид анјон радикал, H₂O₂ - водоник пероксид, NO₂⁻ - нитрити, TBARS – индекс липидне пероксидације.

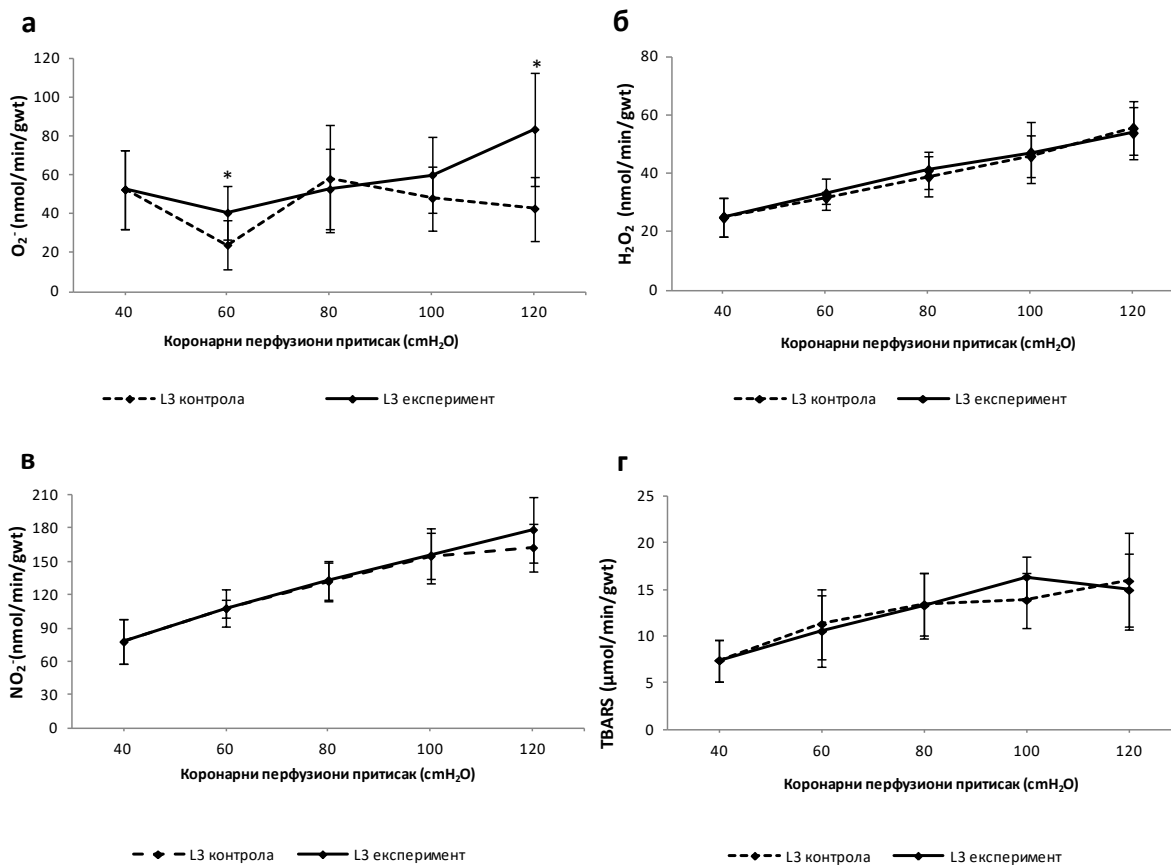


График 11. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анјон радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01

4.5.1.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и диметил сулфооксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у ефектима након хроничне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и диметил сулфооксида на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту су приказане на Графику 12 а-г.

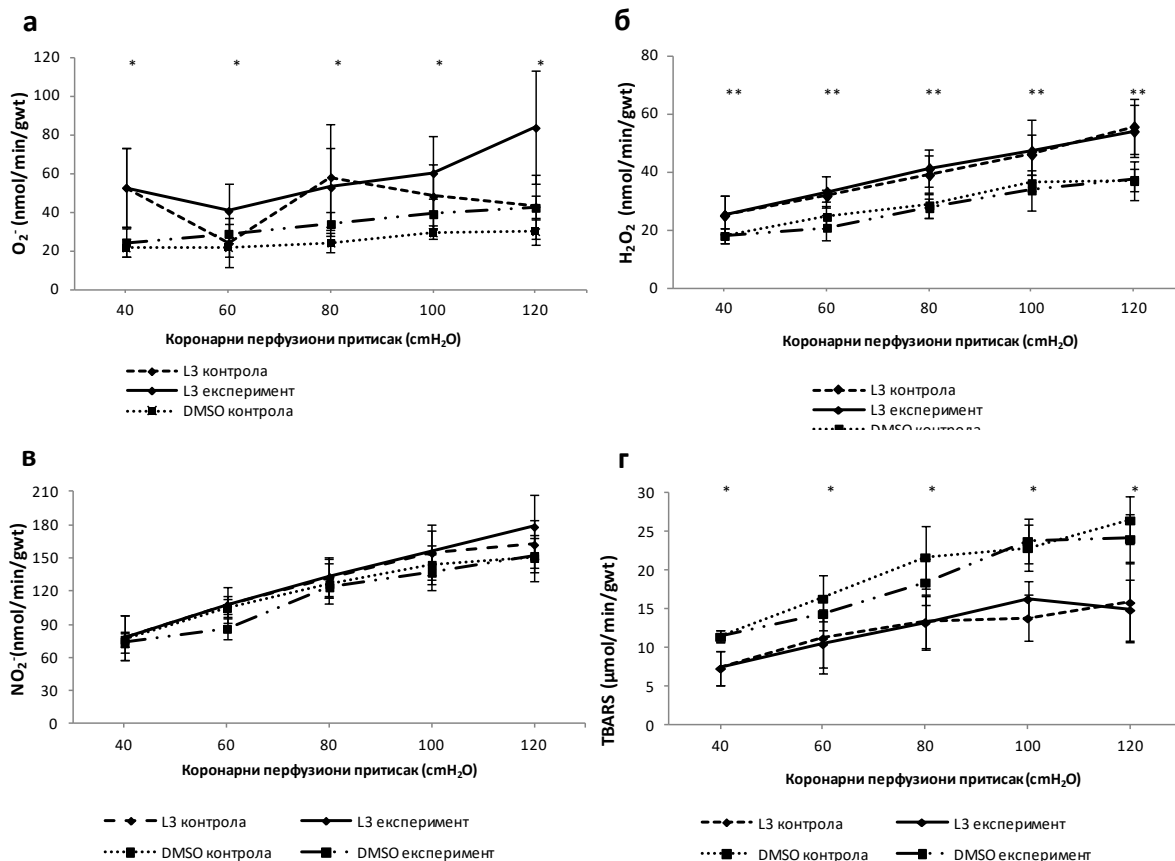


График 12. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анјон радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је p < 0,05, односно са две звездице (**) уколико је p < 0,01

Хронична примена лиганда (L₃) је довела до статистички значајно веће продукције супероксид анјон радикала у односу на DMSO при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) у експерименталним условима (График 12а). Уз то, хронична примена лиганда (L₃) је довела до статистички високо значајно повећане продукције водоник пероксида у односу на DMSO при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) и то како у експерименталним тако и у контролним условима (График 12б). Насупрот томе, DMSO је довео до статистички значајно већих вредности индекса липидне пероксидације у односу на лиганд (L₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 12г). Није било значајне разлике

у продукцији нитрита међу посматраним групама без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 12В).

4.5.2. Утицај хроничне адиминистрације октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (К₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (К₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту у контролним и експерименталним условима у ефлуенту приказани су у Табели 4.10. и на Графику 13. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

Табела 4.10. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (К₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

CPP	O ₂ ^{•-} (nmol/min/gwt)		H ₂ O ₂ (nmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	65,00 ± 20,20	65,00 ± 20,20	27,74 ± 5,71	27,74 ± 5,71
60	32,97 ± 8,68	34,01 ± 10,31	38,31 ± 6,85	36,65 ± 4,96
80	51,77 ± 9,05	45,80 ± 17,63	46,60 ± 9,56	45,11 ± 7,16
100	63,03 ± 18,17	54,61 ± 12,63	55,27 ± 7,85	53,67 ± 10,07
120	50,85 ± 21,47	66,75 ± 18,66	63,96 ± 11,77	62,16 ± 9,41
CPP	NO ₂ ^{•-} (nmol/min/gwt)		TBARS (μmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	94,99 ± 6,93	94,99 ± 6,93	8,65 ± 2,08	8,65 ± 2,08
60	120,46 ± 11,81	119,69 ± 7,42	11,95 ± 2,39	11,34 ± 3,40
80	141,10 ± 20,61	154,44 ± 15,90	12,38 ± 2,47	14,80 ± 3,43
100	179,24 ± 22,78	169,04 ± 17,27	15,12 ± 2,27	16,84 ± 3,25
120	204,15 ± 25,58	187,34 ± 17,07	18,87 ± 2,55	19,40 ± 3,27

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (К) и експерименталним (Е) условима. O₂^{•-} - супероксид анион радикал, H₂O₂ - водоник пероксид, NO₂^{•-} - нитрити, TBARS – индекс липидне пероксидације.

Нису постојале статистички значајне разлике у вредностима испитиваних параметара оксидационог стреса након хроничне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) између контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График а-г).

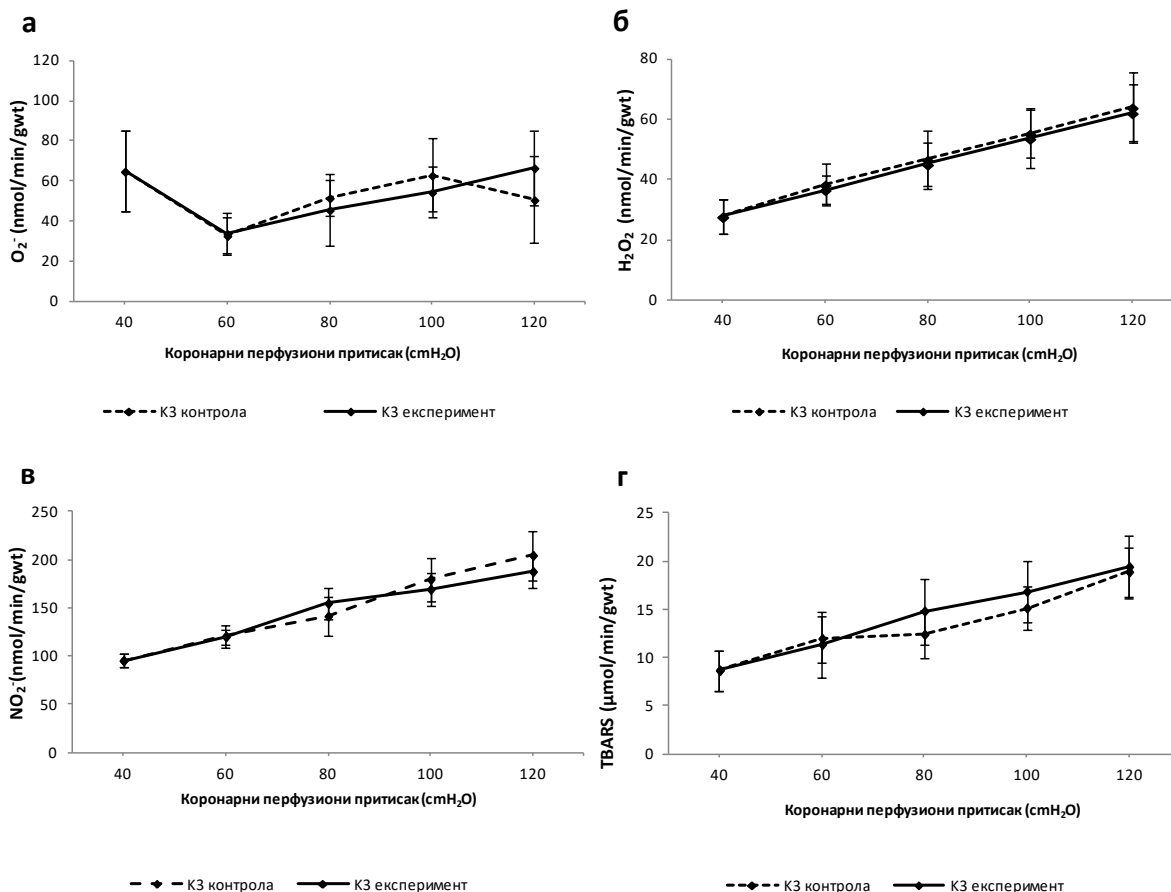


График 13. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анион радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је p < 0,05, односно са две звездике (**) уколико је p < 0,01

4.5.2.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације октахедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у ефектима након хроничне примене октахедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) и диметил сулфоксида на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту су приказане на Графику 14 а-г. Хронична примена платинског комплекса (K₃) је довела до статистички значајно веће продукције супероксид анјон радикала у хипоксичним и хипероксичним условима (CPP = 40-60 и 100-120 cmH₂O) у односу на DMSO и то посебно у контролним условима (График 14а). Уз то, хронична примена платинског комплекса (K₃) је довела до статистички високо значајно повећане продукције водоник пероксида у односу на DMSO при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) и то како у експерименталним тако и у контролним условима (График 14б). Такође, хронична примена платинског комплекса (K₃) је довела до статистички значајно повећане продукције нитрита у односу на DMSO при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) нарочито у експерименталним условима (График 14в). Насупрот томе, DMSO је довео до статистички значајно већих вредности индекса липидне пероксидације у односу на платинског комплекса (K₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) нарочито у контролним условима (График 14г).

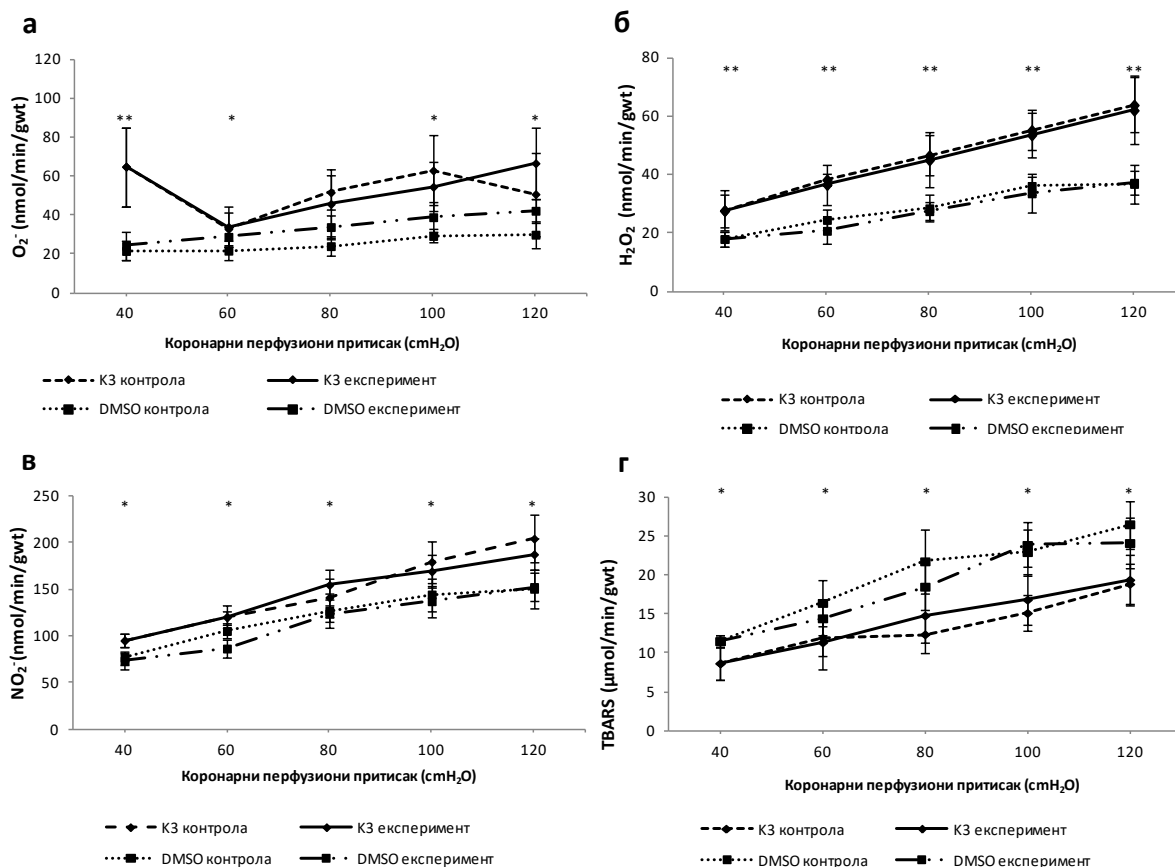


График 14. Поређење ефеката хроничне адиминистрације октахедралног Pt(IV) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O_2^- - супероксид анион радикал, б) H_2O_2 - водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездике (**) уколико је $p < 0,01$

4.5.3. Утицај хроничне адиминистрације Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Ефекти хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту у контролним и експерименталним условима у ефлуенту приказани су у Табели 4.11. и на Графику 15. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Табела 4.11. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

CPP	O ₂ ^{•-} (nmol/min/gwt)		H ₂ O ₂ (nmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	14,05 ± 5,39	14,05 ± 5,39	16,92 ± 1,57	16,92 ± 1,57
60	20,38 ± 10,91	15,48 ± 4,12	20,53 ± 3,29	21,36 ± 1,14
80	27,75 ± 9,32	16,92 ± 7,58	23,48 ± 5,18	26,50 ± 4,47
100	24,75 ± 9,80	28,58 ± 8,15	28,64 ± 7,51	29,73 ± 7,10
120	37,23 ± 9,80	35,22 ± 7,82	35,76 ± 7,47	34,29 ± 5,88
CPP	NO ₂ ⁻ (nmol/min/gwt)		TBARS (μmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	71,72 ± 7,64	71,72 ± 7,64	12,99 ± 2,21	12,99 ± 2,21
60	90,65 ± 8,26	93,99 ± 9,60	17,65 ± 3,18	16,64 ± 3,15
80	108,11 ± 20,21	116,11 ± 23,06	19,78 ± 6,19	20,73 ± 3,95
100	133,48 ± 26,13	130,32 ± 21,91	22,81 ± 5,16	22,08 ± 2,24
120	162,96 ± 20,52	157,41 ± 22,26	29,58 ± 7,50	23,59 ± 4,56

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (К) и експерименталним (Е) условима. O₂^{•-} - супероксид анион радикал, H₂O₂ - водоник пероксид, NO₂⁻ - нитрити, TBARS – индекс липидне пероксидације.

Нису постојале статистички значајне разлике у вредностима испитиваних параметара оксидационог стреса након хроничне примене Pd(II) комплекса са О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) између контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 15 а-г).

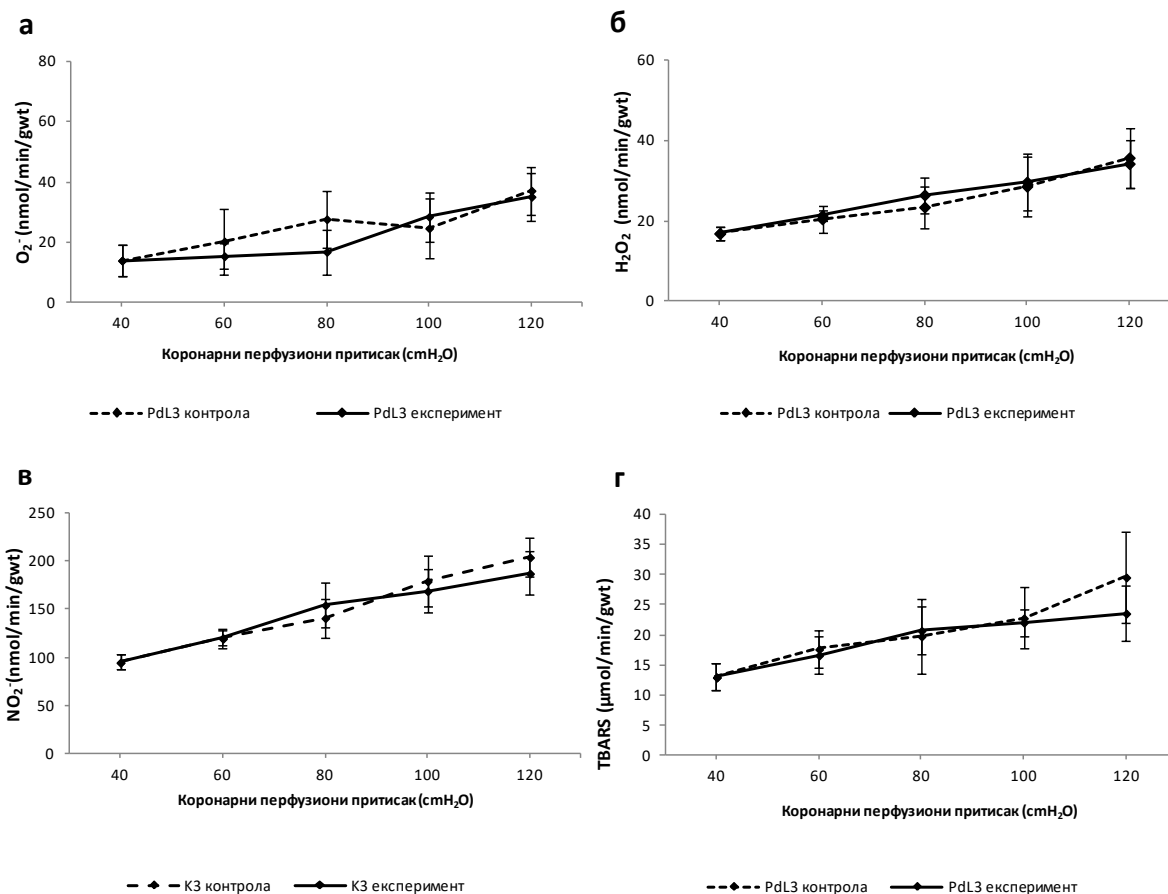


График 15. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анион радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01

4.5.3.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације Pd(II) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у ефектима након хроничне примене Pd(II) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL₃) и диметил сулфоксида на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту су приказане на Графику 16 а-г. Хронична примена паладијумског комплекса (PdL₃) је

довела до статистички значајно веће продукције супероксид анјон радикала при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) у односу на DMSO и то посебно у експерименталним условима (График 16а). Није постојала статистички значајна разлика у продукцији осталих параметара оксидационог стреса без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) међу посматраним групама (График 16 б-г).

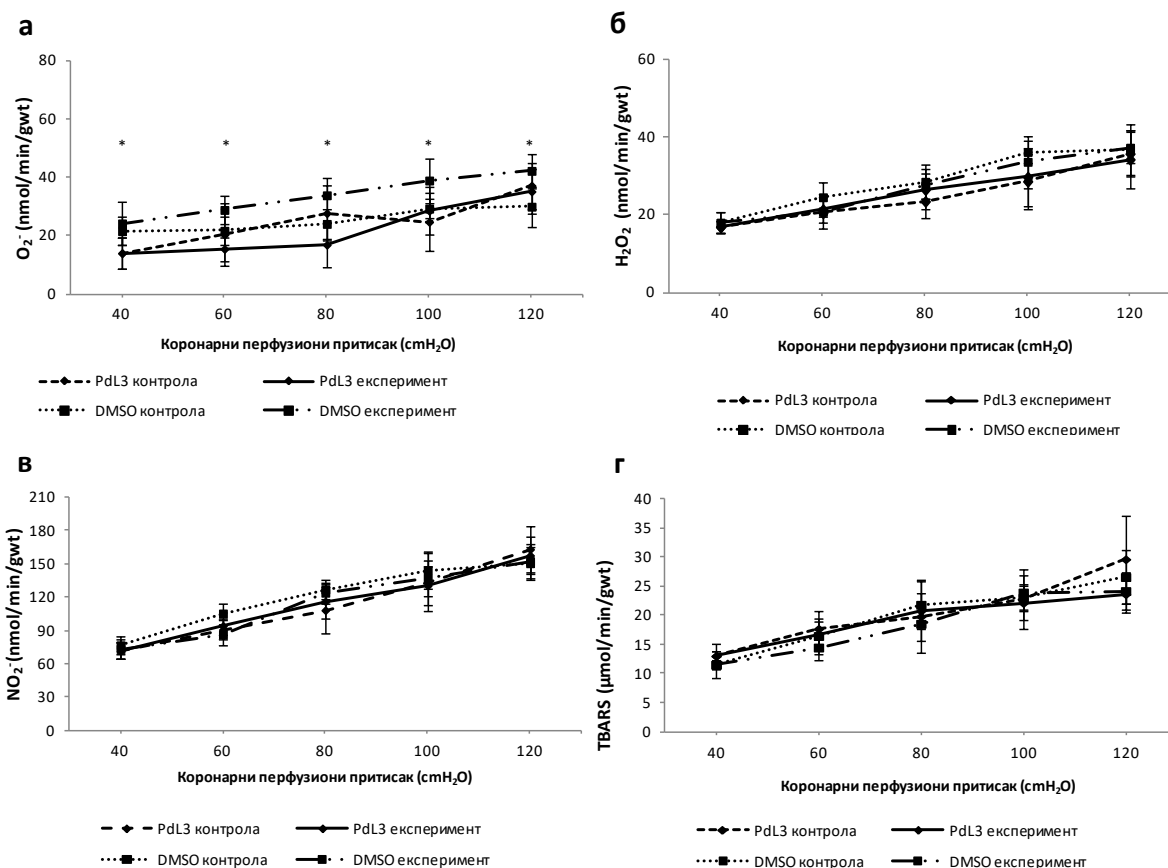


График 16. Поређење ефеката хроничне адиминистрације октахедралног Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K₃) и диметил сулфоксида (DMSO) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анјон радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је p < 0,05, односно са две звездице (**) уколико је p < 0,01

4.5.4. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у оствареним ефектима лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту приказане су на Графику 17.

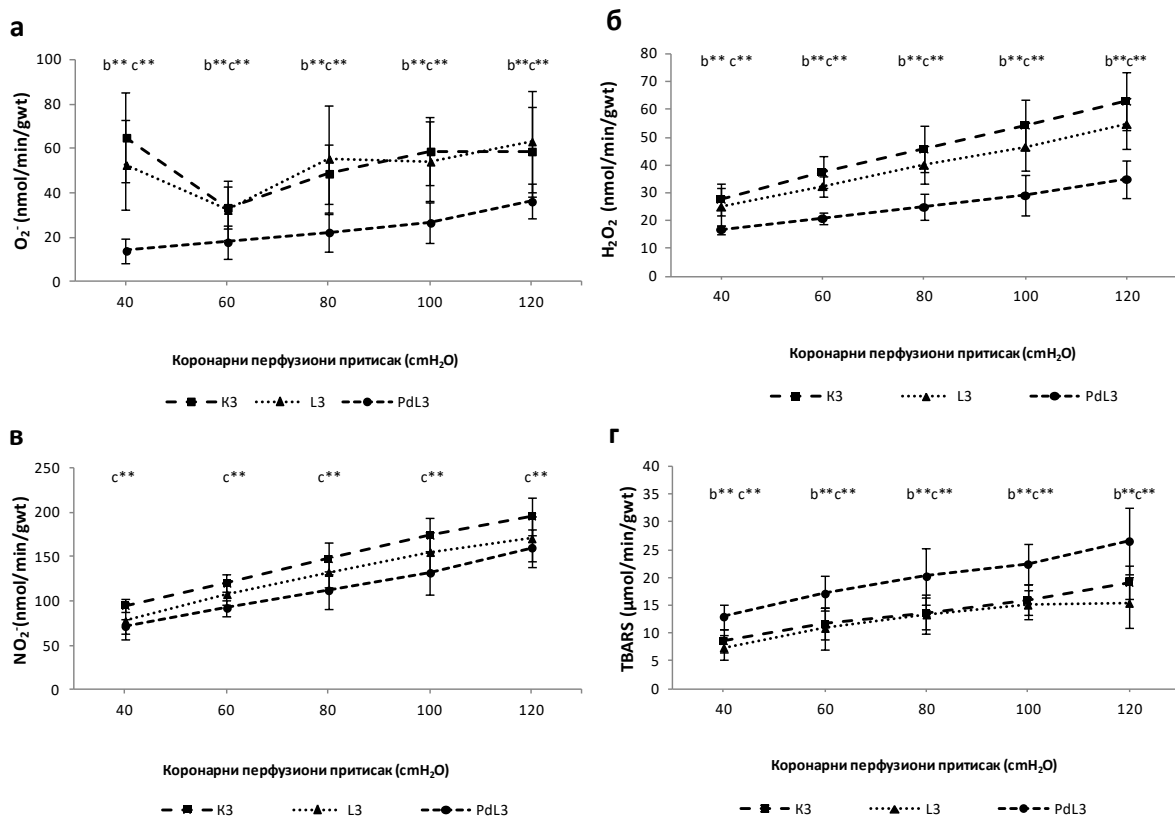


График 17. Поређење ефекта хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O_2^- - супероксид анјон радикал, б) H_2O_2 - водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (***) уколико је $p < 0,01$; а - L_3 vs. K_3 , б - L_3 vs. PdL_3 ; с - K_3 vs. PdL_3 .*

Примена паладијумског комплекса (PdL_3) је довела до најмање продукције супероксид анјон радикала при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17а). Лиганд (L_3) и платински комплекс (K_3) су изазвали статистички високо значајно повећање продукције супероксид анјон радикала у поређењу са паладијумским комплексом (График 17а). Готово идентичан тренд био је присутан код вредности водоник пероксида при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17б). Са друге стране потпуно обрнут ефекат је имала хронична примена испитиваних једињења на вредности индекса липидне пероксидације у ефлуенту (График 17г). Наиме, примена паладијумског комплекса (PdL_3) је довела до статистички високо значајног пораста индекса липидне пероксидације у односу на платински комплекс (K_3) и лиганд (L_3) при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17г). Највише вредности нитрита у ефлуенту су забележене у групи третираног платинским комплексом (K_3) при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17в). Примена паладијумског комплекса је довела до статистички високо значајне смањене продукције нитрита у односу на платински комплекс при свим посматраним коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17в). Вредности свих параметара оксидационог стреса се нису значајно разликовале у групама третираним лигандом (L_3) и платинским комплексом (K_3) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17 а-г). Такође, није било значајне разлике у вредностима нитрита након примене лиганда (L_3) и паладијумског комплекса (PdL_3) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 17в).

4.6. Утицај хроничне адиминистрације цисплатине на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Ефекти хроничне интраперитонеалне цисплатине на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у контролним и експерименталним условима у ефлуенту приказани су у Табели 4.12 и на Графику 18. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$. Нису постојале статистички значајне разлике у вредностима испитиваних параметара оксидационог стреса након хроничне примене цисплатине између контролних и експерименталних услова без обзира на промену коронарног перфузионог притиска ($CPP = 40-120 \text{ cmH}_2\text{O}$) (График 18 а-г).

Табела 4.12. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене цисплатине на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

CPP	O_2^- (nmol/min/gwt)		H_2O_2 (nmol/min/gwt)	
	К	Е	К	Е
40	59,39 ± 26,41	59,39 ± 26,41	27,07 ± 5,30	27,07 ± 5,30
60	29,03 ± 13,30	36,86 ± 16,81	34,41 ± 7,80	35,7 ± 6,79
80	39,79 ± 15,04	57,29 ± 17,05	40,38 ± 8,20	37,44 ± 7,76
100	42,03 ± 11,36	53,44 ± 7,75	45,61 ± 9,35	43,3 ± 10,27
120	44,08 ± 8,83	49,65 ± 13,37	51,43 ± 9,81	52,9 ± 11,28
CPP	NO_2^- (nmol/min/gwt)		TBARS ($\mu\text{mol/min/gwt}$)	
	К	Е	К	Е
40	109,66 ± 12,12	109,66 ± 12,12	10,30 ± 2,90	10,30 ± 2,90
60	91,10 ± 21,35	94,94 ± 19,10	14,50 ± 4,70	13,48 ± 4,10
80	102,37 ± 22,70	105,27 ± 25,10	15,77 ± 2,11	16,25 ± 4,58
100	126,03 ± 23,78	119,30 ± 22,63	18,54 ± 3,39	18,39 ± 1,91
120	142,08 ± 28,39	135,50 ± 22,01	21,54 ± 2,76	20,00 ± 2,71

Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$) у контролним (К) и експерименталним (Е) условима. O_2^- - супероксид анјон радикал, H_2O_2 - водоник пероксид, NO_2^- - нитрити, TBARS – индекс липидне пероксидације.

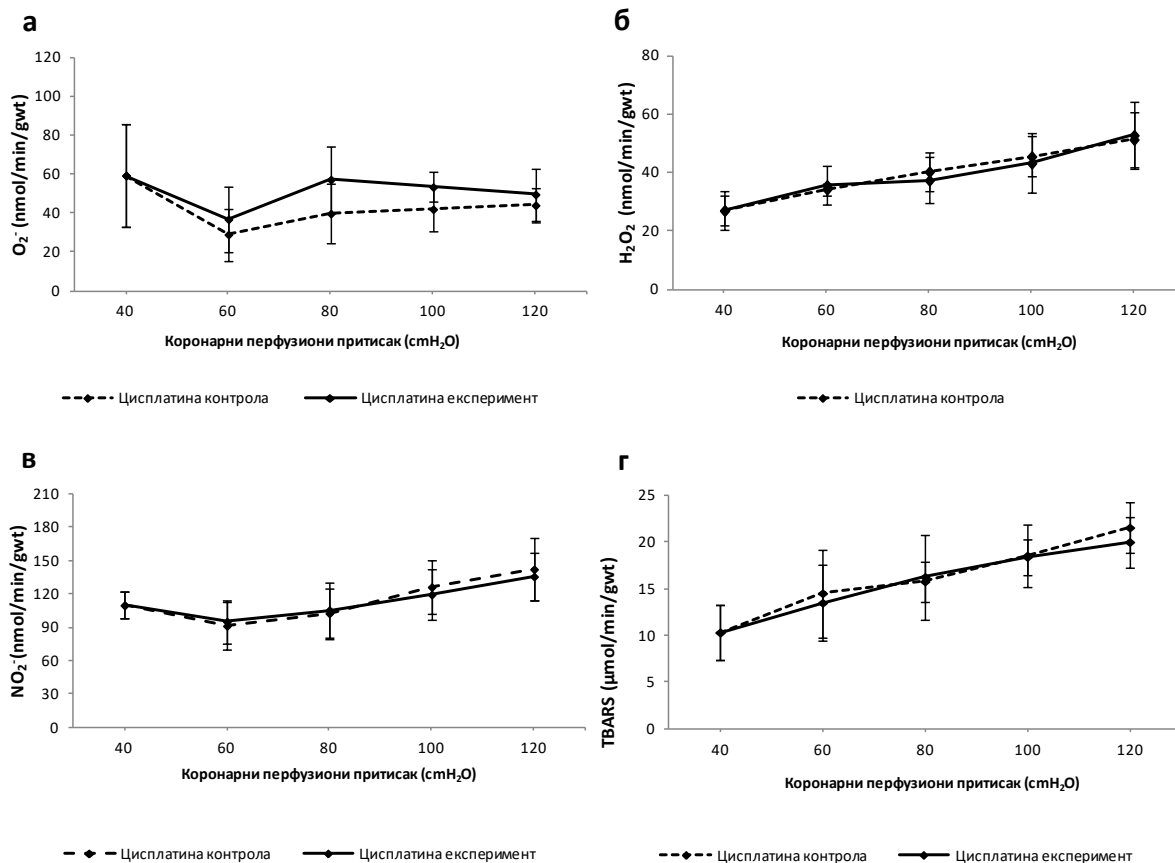


График 18. Ефекти хроничне интраперитонеалне примене лиганда O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O_2^- - супероксид анион радикал, б) H_2O_2 - водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) $TBARS$ – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$

4.6.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у ефектима након хроничне примене цисплатине и физиолошког раствора на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту су приказане на Графику 19.

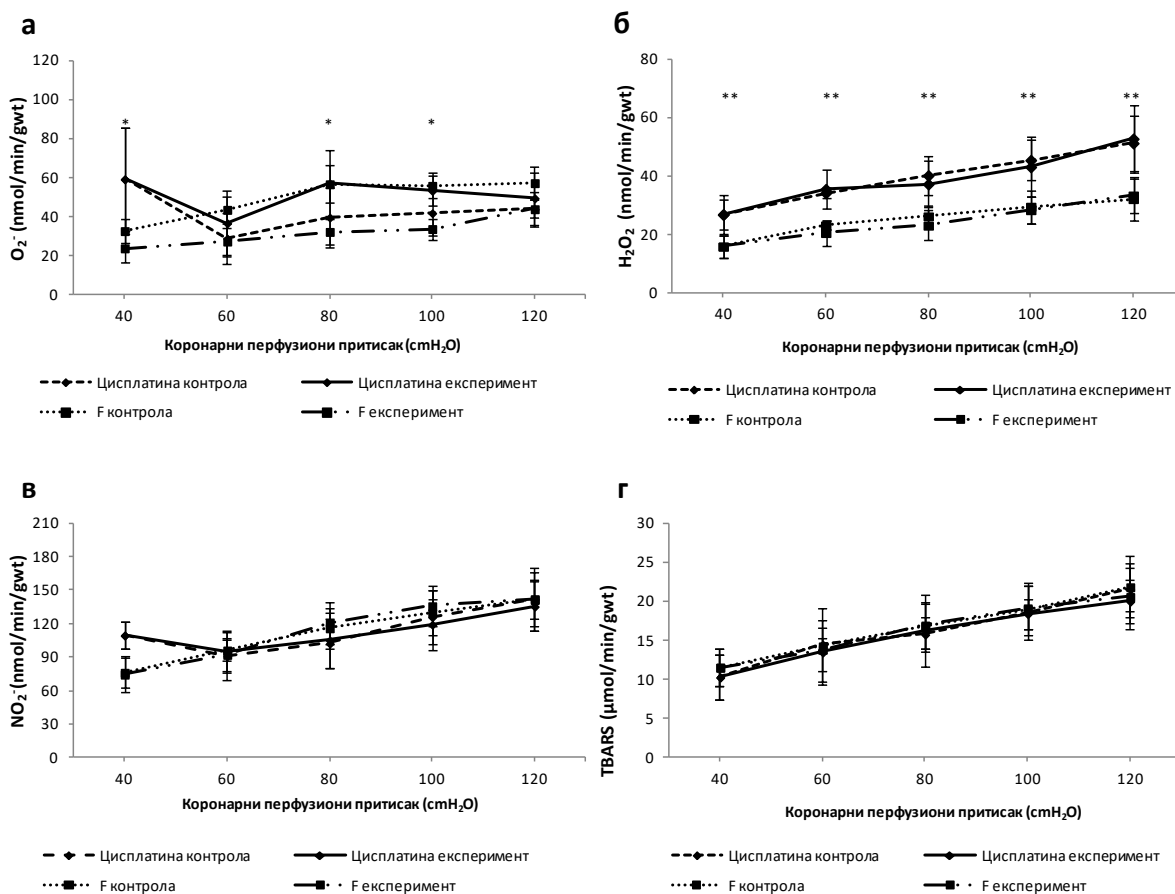


График 19. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂^{•-} - супероксид анјон радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂[•] - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између контролних и експерименталних услова при различитим перфузионим притисцима су одређене Wilcoxon-овим тестом за везане узорке, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездике (**) уколико је $p < 0,01$

Хронична прмена цисплатине је довела до статистички значајног повећања у продукцији супероксид анјон радикала у односу на контролну групу при различитим коронарним перфузионим притисцима (CPR = 40 и 80-100 cmH₂O) (График 19а). Такође, примена цисплатине је довела до повећане продукције водоник пероксида у односу на контролну

групу и то при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 19б). Са друге стране није постојала статистички значајна разлика у вредностима нитрита и индекса липидне пероксидације између групе која је примала цисплатину и групе која је примала физиолошки раствор без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 19в и 19г).

4.7. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

Разлике у оствареним ефектима цисплатине, лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту су приказане на Графику 2. Примена цисплатине је довела до статистички високо значајног порста вредности супероксид анјон радикала у односу на примену паладијумског комплекса (PdL₃) при готово свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-100 cmH₂O) (График 20а). Са друге стране, вредности супероксид анјон радикала се нису значајно разликовале у групи третираној цисплатином у односу на групе третирану лигандом (L₃) и групу третирану платинским комплексом (K₃) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (График 20а). Слична разлика у ефектима између група је постојала и на вредности водоник пероксида (График 20б). Цисплатина је довела до статистички значајно већих вредности водоник пероксида у односу на паладијумски комплекс (PdL₃) при свим коронарним перфузионим притисцима (CPP = 40-1020 cmH₂O), док није било разлике у овим вредностима код примене лиганда (L₃) и платинског комплекса (K₃) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 20б). Код динамике ослобађања нитрита постојао тотално другачији тренд. Наиме, вредности нитрита су биле статистички значајно више у групама третираним платинским комплексом (K₃) (CPP = 80-120 cmH₂O) и лигандом (L₃) (CPP = 60-120 cmH₂O) у односу на

групу третирану цисплатином (График 20в). Вредности нитрита се нису разликовале у групи третираној цисплатином у односу на групу третирану паладијумским комплексом (PdL₃) без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 20в). Није посотојала статистички значајна разлика у вредностима индекса липидне пероксидације између цисплатине и преостале три групе без обзира на промену коронарног перфузионог притиска (CPP = 40-120 cmH₂O) (График 20г).

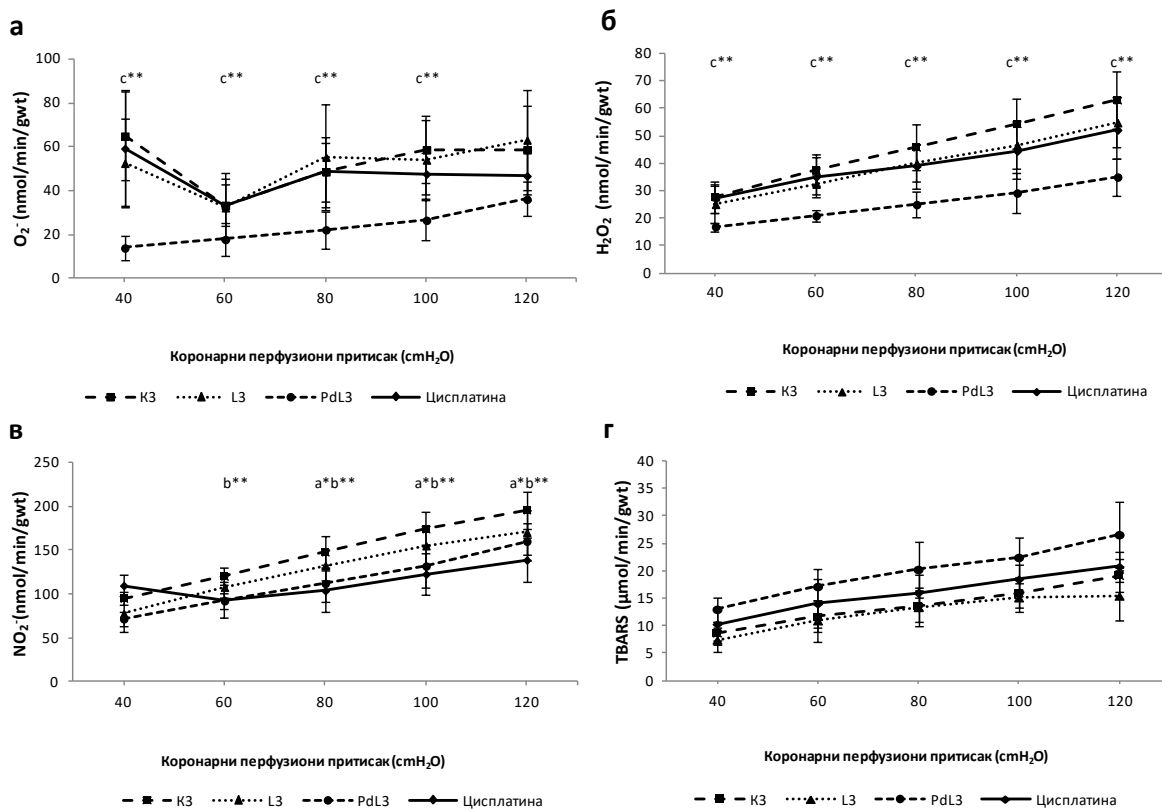


График 20. Поређење ефекта хроничне адиминистрације лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

а) O₂⁻ - супероксид анион радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације.. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01; а – цисплатина vs. L₃, б – цисплатина vs.K₃; c – цисплатина vs. PdL₃.

4.8. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

4.8.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре системског оксидационог стреса у плазми приказане су на Графику 21. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију (X±SD), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01.

Вредности супероксид анјон радикала и водоник пероксида се нису статистички значајно разликовале у све три посматране групе у поређењу са одговарајућом контролном групом (DMSO) (График 21а, График 21б). Са друге стране након примене лиганда вредности нитрита и индекса липидне пероксидације су биле статистички високо значајно веће него након примене диметил сулфоксида (DMSO) (График 21в и График 21г). Примена платинског комплекса (K₃) је довела само до повећаног стварања нитрита (График 21в). Примена паладијумовог комплекса није довела до повећаног стварања праћених прооксидационих молекула у плазми (График 21 а-г).

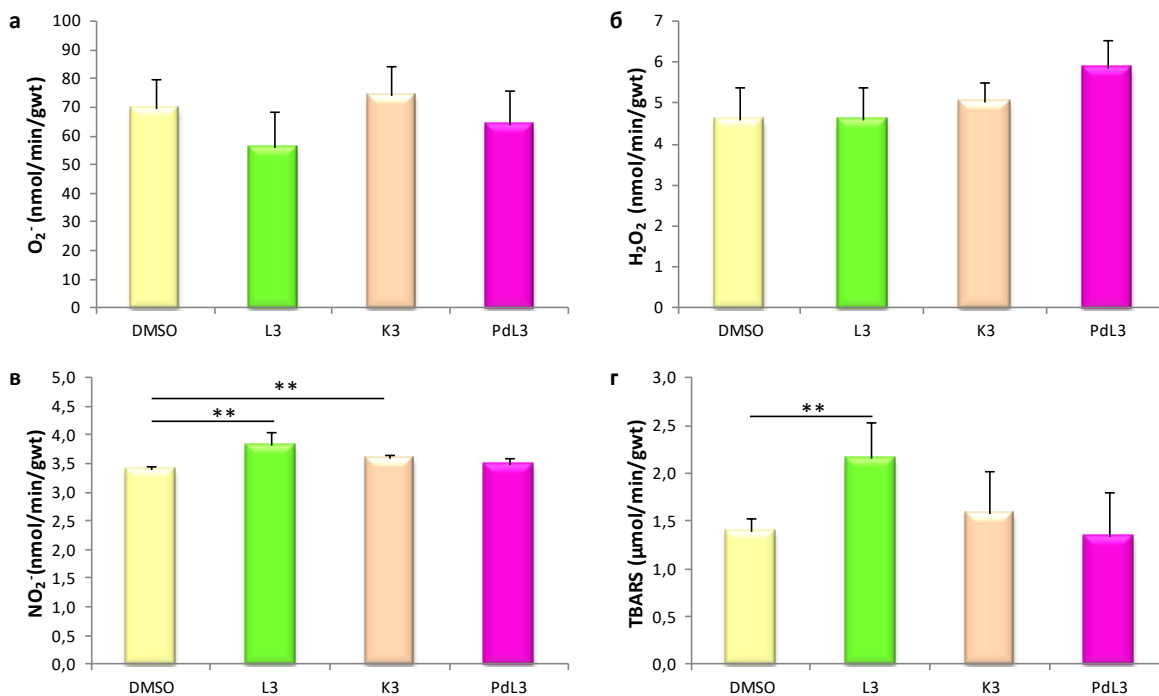


График 21. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

а) O_2^- - супероксид анион радикал, б) H_2O_2 - водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

4.8.2. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре системског оксидационог стреса у плазми приказане су на Графику 22. Резултати поменутих параметара су приказани као средња

вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

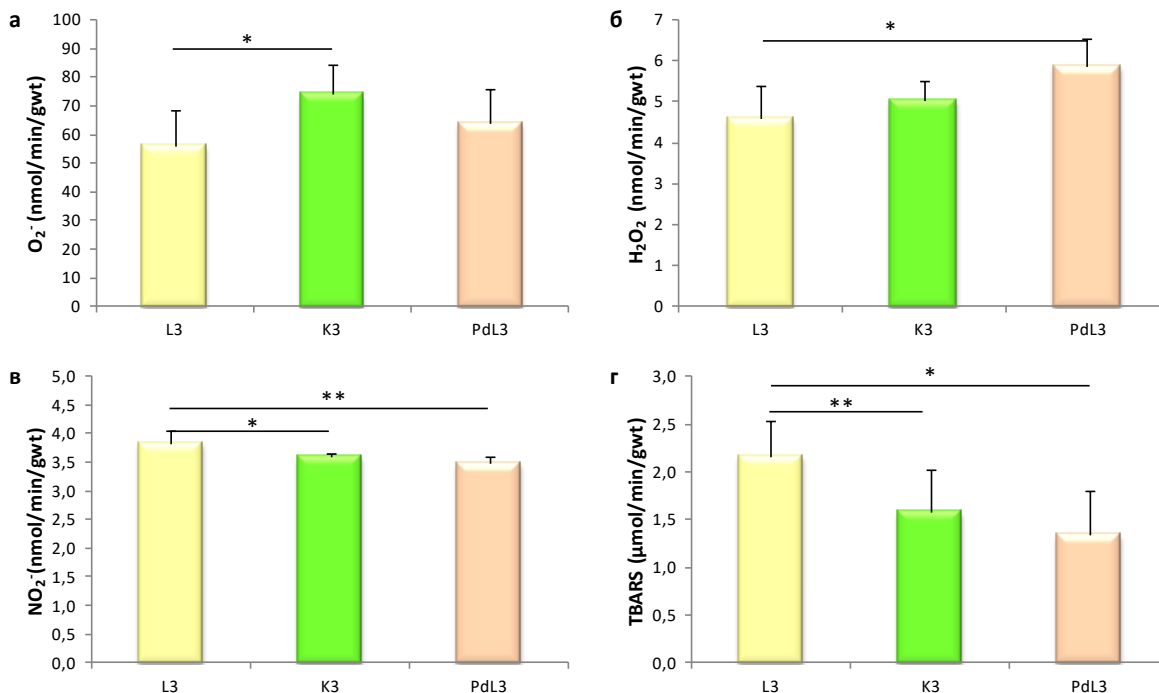


График 22. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда O,O' -диетил-(S,S)-етилендиамин- N,N' -ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3) и његових комплекса са четворовалентном платином [$PtCl_4\{(S,S)\text{-Et}_2\text{eddch}\}$] (K_3) и двовалентним паладијумом [$PdCl_2\{(S,S)\text{-Et}_2\text{eddch}\}$] (PdL_3) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

а) O_2^- - супероксид анјон радикал, б) H_2O_2 – водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

Примена платинског комплекса (K_3) је довела до повећаног стварања супероксид анјон радикала (График 22а), док је примена паладијумовог комплекса (PdL_3) довела до повећаног стварања водоник пероксида у поређењу са применом лиганда (L_3) (График 22б). Вредности нитрита и индекса липидне пероксидације су биле највише у групи третираној лигандом (L_3) и то значајно више него у преостале две групе (График 22в и График 22г). Вредности прооксидационих молекула се нису значајно разликовале када су поређене групе третиране платинским (K_3) и паладијумовим комплексом (PdL_3) (График 22 а-г).

4.9. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене цисплатине и физиолошког раствора на параметре системског оксидационог стреса у плазми приказане су на Графику 23. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Примена цисплатине није довела до значајног пораста у продукцији прооксидационих молекула у поређењу са одговарајућом контролном групом (F) (График 23 а-г).

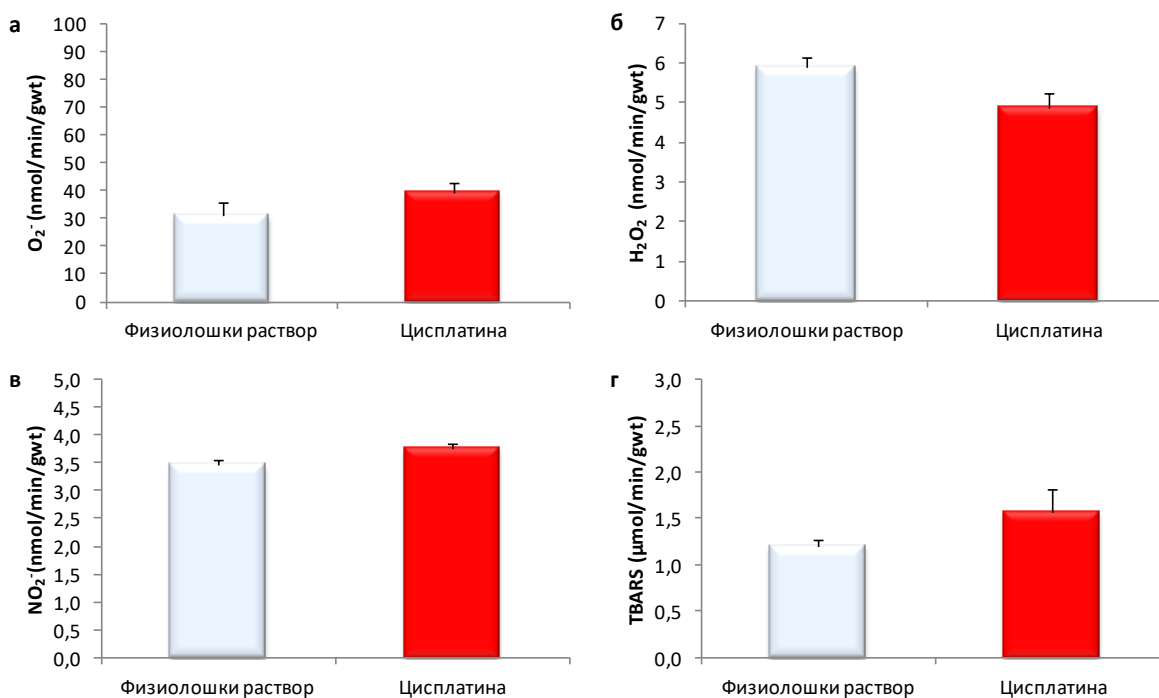


График 23. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре системског оксидационог стреса у плазми

а) O_2^- - супероксид анјон радикал, б) H_2O_2 - водоник пероксид, в) NO_2^- - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

4.10. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре системског оксидационог стреса у плазми

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре системског оксидационог стреса у плазми приказане су на Графику 24. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију (X±SD), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01.

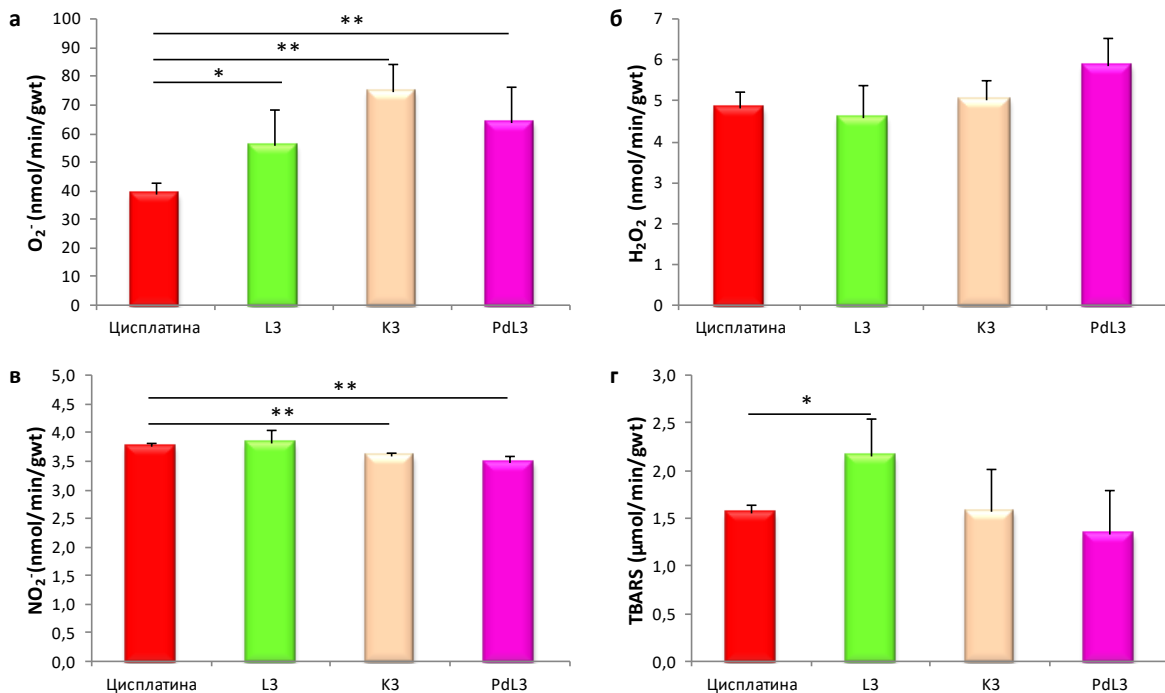


График 24. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом

[PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре системског оксидационог стреса у плазми

а) O₂⁻ - супероксид анјон радикал, б) H₂O₂ - водоник пероксид, в) NO₂⁻ - нитрити, г) TBARS – индекс липидне пероксидације. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01.*

Хронична примена лиганда је довела до значајног повећања супероксид анјон радикала и индекса липидне пероксидације у односу на цисплатину (График 24а и График 24г). Са друге стране платински комплекс (K₃) и паладијумов комплекс (PdL₃) су довели до повећаног стварања супероксид анјон радикала (График 24а), а смањеног стварања нитрита (График 24в) у поређењу са цисплатином. У динамици стварања осталих прооксидационих молекула није било значајне разлике између посматраних група са цисплатином (График 24 а-г).

4.11. Утицај хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

4.11.1. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита приказане су на Графику 25. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију (X±SD), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01.

Ниједно од примењених једињења (L₃, K₃ и PdL₃) није значајно утицало на настанак супероксид дисмутазе и редукованог глутатиона у односу на контролу (DMSO) (График 25а и График 25в). Са друге стране сва једињења су довела до повећане продукције катализе у односу на контролу (DMSO) (График 25б).

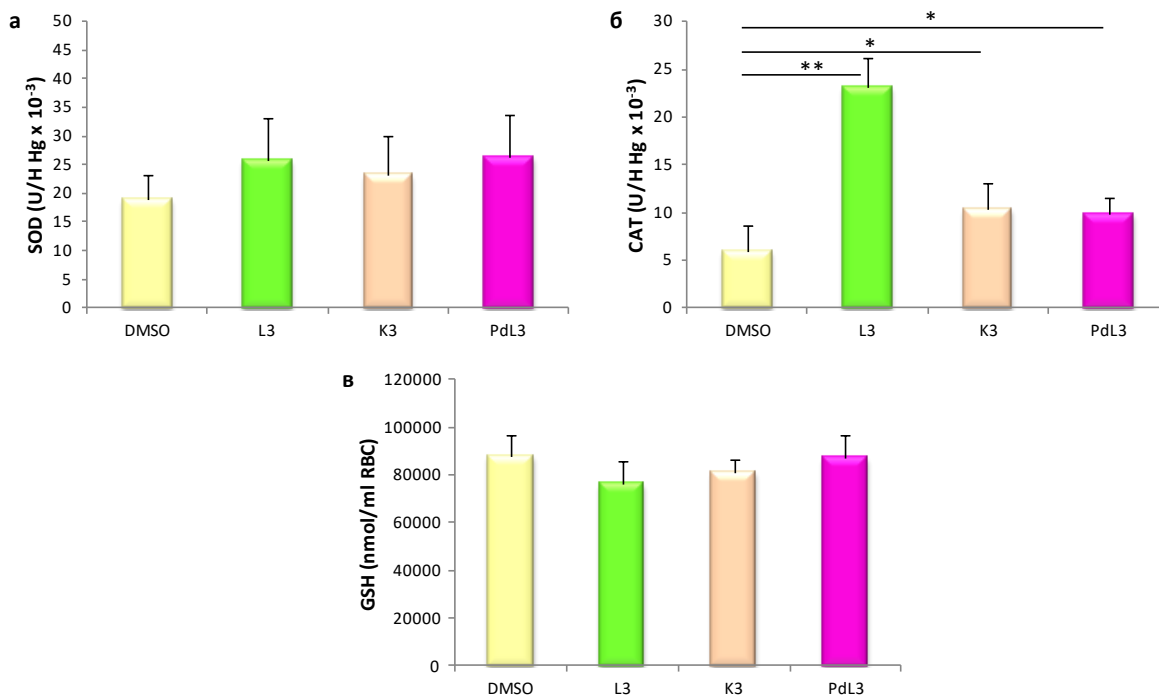


График 25. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са диметил сулфоксидом (DMSO) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

а) SOD – супероксид дисмутаза, б) CAT – каталаза, в) GSH – редуковани глутатион. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

4.11.2. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита приказане су на Графику 26. Резултати поменутих параметара су приказани

као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездике (**) уколико је $p < 0,01$.

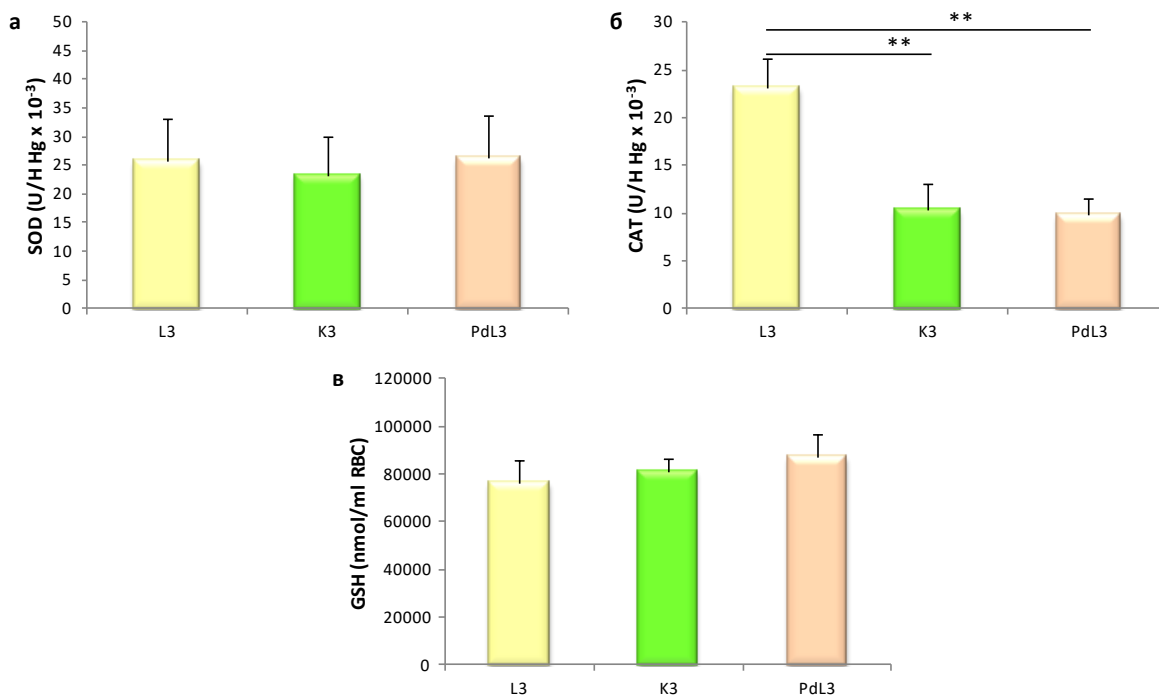


График 26. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

а) SOD – супероксид дисмутаза, б) CAT – каталаза, в) GSH – редуковани глутатион. Стаистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездicom (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездике (**) уколико је $p < 0,01$.

Хронична примена лиганда је довела до значајно веће продукције каталазе у односу на платински (K₃) и паладијумов комплекс (PdL₃) (График 26б). Није било значајне разлике у вредностима супероксид дисмутазе и редукованог глутатиона у ове три групе (L₃, K₃ и PdL₃) (График 26а и График 26в).

4.12. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене цисплатине и одговарајуће контроле (F) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита приказане су на Графику 27. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

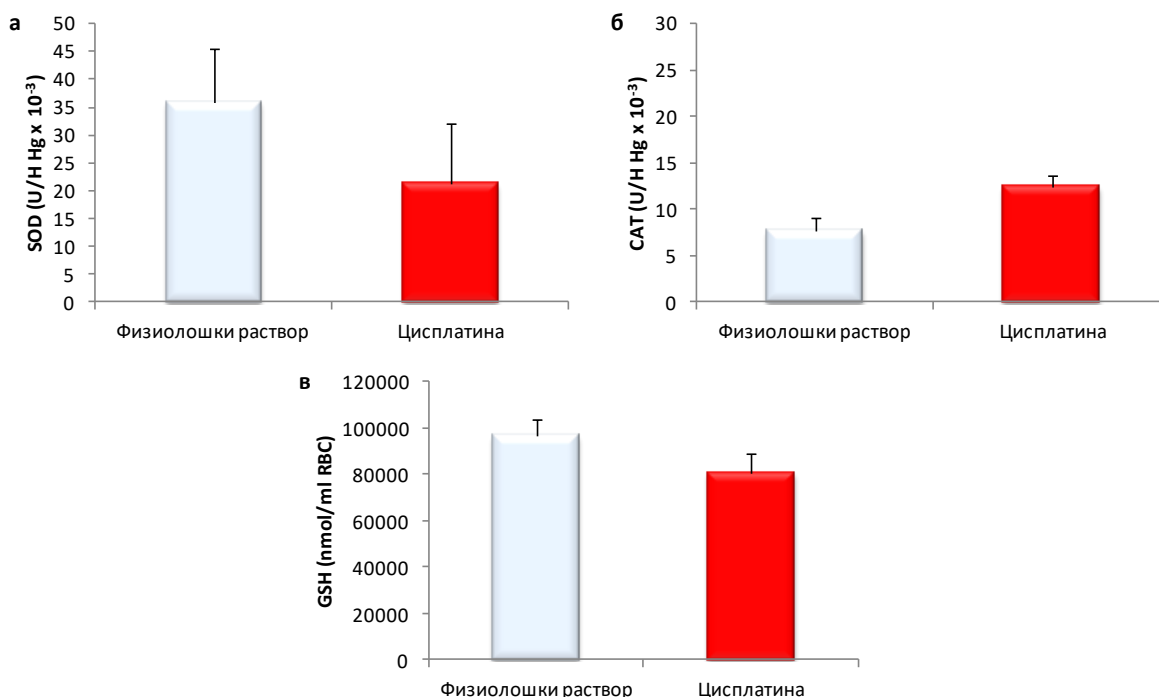


График 27. Поређење ефеката хроничне адиминистрације цисплатине и физиолошког раствора (F) на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

а) SOD – супероксид дисмутаза, б) CAT – каталаза, в) GSH – редуковани глутатион. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

Хронична примена цисплатине није довела до значајне разлике у вредностима параметара антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита у поређењу са контролном групом (F) (График 27 а-в).

4.12. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

Разлике у ефектима хроничне интраперитонеалне примене лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита приказане су на Графику 28. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну девијацију (X±SD), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездicom (*) уколико је p<0,05, односно са две звездице (**) уколико је p<0,01.

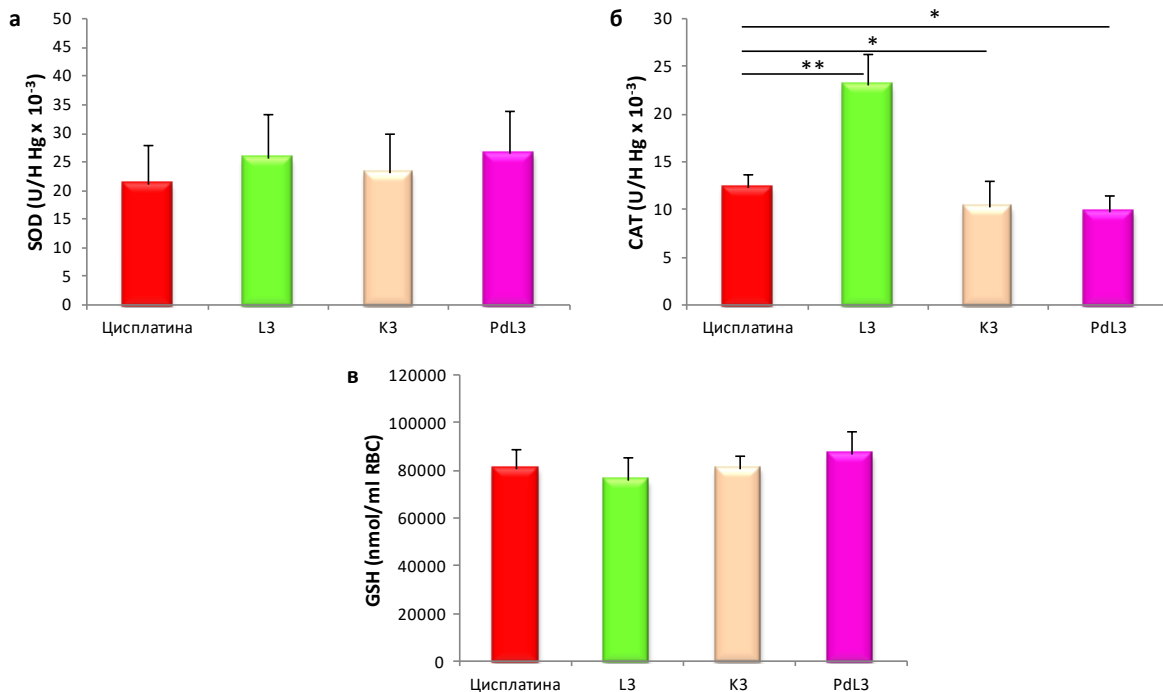


График 28. Поређење ефеката хроничне адиминистрације лиганда О,О'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) и његових комплекса са четворовалентном платином [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃) и двовалентним паладијумом

[PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) са цисплатином на параметре антиоксидационог система заштите у лизату еритроцита

а) SOD – супероксид дисмутаза, б) CAT – каталаза, в) GSH – редуковани глутатион. Статистички значајне разлике између посматраних група при различитим перфузионим притисцима су одређене Kruskal Wallis-овим тестом, а приказане једном звездицом () уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.*

Ниједно од примењених једињења (L₃, K₃ и PdL₃) није значајно утицало на настанак супероксид дисмутазе и редукованог глутатиона у односу на цисплатину (График 28а и График 28в). Са друге стране сва једињења су довела до повећане продукције катализе у односу на цисплатину (График 28б).

V. ДИСКУСИЈА

Примарни циљ садашње студије је био да испита ефекте хроничне апликације цисплатине (CDDP) и O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L₃) односно његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на изоловано срце пацова перфундовано по Langendorff-овом моделу.

Ова идеја је произишла из потребе да се пронађе нови цитостатски агенс који би имао мање изражен кардиотоксични ефекат од цисплатине (као референтног цитостатика) уз подједнако или евентуално ефикасније антитуморско дејство.

Комплекси платине су највише проучавани комплекси метала због њихове важности у терапији карцинома. Неки од антитуморских лекова на бази платине, као што су цисплатина, карбоплатина и оксалиплатина, имају неколико недостатака, укључујући нуспојаве, туморе резистентне на ове агенсе, нефро- и кардиотоксичност, ограничену растворљивост у воденом медију и тако даље (129). У том смислу, да би се постигла мања нежељена токсичност, повећана растворљивост и селективност тумора, велики број радова је у новије време посвећен припреми модификованих комплекса платине.

Један од начина да се дизајнирају нови анти-туморски агенси на бази цисплатине је да се промени природа централног јона метала. Међу комплексима метала без платине који су проучавани за лечење рака, паладијум (II) деривати су лако изабрани због њихове структурне аналогије са онима који садрже Pt(II) комплексе (129).

Цисплатина (цис-диамминедихлороплатина II) је један од најчешће коришћених антинеопластичних лекова. То је био први агенс на бази метала који је ушао у клиничка испитивања 1972. године, док је у клиничким условима употребљен први пут 1979. године (130, 131). Цисплатина се данас третира као лек "златног стандарда" у лечењу малигних болести тестиса (са стопом излечења од 90%) као и терапији канцера главе и врата, грлића материце, дојке, плућа, јајника, желуца, бешике, итд. (132-135).

Цисплатина остварује своју антитуморску активност кроз своја алкилирајућа својства. Наиме, када једном уђе у цитоплазму ћелије, где је концентрација хлорида много нижа него у крви (~20 mM vs ~ 100 mM), цисплатина спонтано и секвенцијално замењује своје хлоридне лиганде са молекулима воде (130). Резултат овог процеса представља формирање позитивно наелектрисаног бис-воденог комплекса платине који се сада може везати за молекул ДНК (133, 134).

Цисплатина претежно формира спојнице између две суседне гуанинске нуклеобазе које су праћене гуанином и аденином. Ови адукти узрокују савијање ДНК хеликса до 60% према главном жлебу и даље одмотавање ланца које на тај начин инхибира даљу репликацију ДНК и транскрипцију, што у крајњем води до смрти ћелије (130, 133, 134).

Терапијски успех цисплатине у клиничкој пракси могу да умање односно ометају два главна ограничења: развој малигних ћелија отпорних на цисплатину и токсични ефекти цисплатине. Када ћелије постану резистентне на цисплатину, доза цисплатине која се примењује се повећава, што самим тим повећава ниво његових токсичних споредних ефеката (134). Употреба цисплатине је примарно повезивана са нефротоксичношћу, неуротоксичношћу и ототоксичношћу (130, 132).

Са друге стране, кардиотоксичност се генерално не сматра као уобичајена нуспојава коришћења цисплатине. Међутим, током протекле деценије дошло је до наглог пораста броја клиничких случајева у којима је забележен неки од кардиотоксичних манифестација који се јављају током или непосредно након инфузије цисплатине (135, 136). Међу нежељеним кардиоваскуларним догађајима се најфреквентније срећу тиха и симптоматска аритмија, ангина пекторис, миокардитис, перикардитис, дијастолни поремећаји, срчана исхемија, акутни инфаркт миокарда, тромбоемболијски догађаји, и хронична срчана инсуфицијенција. Механизми путем којих цисплатина остварује своју кардиотоксичну активност су још увек непознати и недовољно разјашњени (135, 136).

Важно је напоменути да се инфузија цисплатине рутински не одвија у условима мониторинга срчаног рада, у поређењу са другим лековима (као што су антрациклини) и на тај начин кардиотоксичност индукована цисплатином може проћи неопажено чиме ови ефекти цисплатине могу често бити занемарени и непријављени. Интересантно је да се цисплатина може наћи у плазми пацијената двадесет година након завршетка хемиотерапије што може узроковати дугорочне кардиотоксичне ефекте (137).

Због свега изнетог разјашњење кардиотоксичних манифестација цисплатине је важно питање које треба испитати и боље разумети. У том смислу, у новије време се покушава са проналажењем нових деривата цисплатине и нових комплекса метала или појединачних лиганата чији се антинеопластични ефекат са једне и кардиотоксични са друге стране компарирају са цисплатином (138, 139).

Иако се недавних година значајно повећао број истраживања која се баве овом проблематиком још увек се нису добили обећавајући резултати који би указивали да неки од агенаса поседују мања кардиотоксична својства уз очувани или евентуално бољи хемиотерапеутски потенцијал (138, 139).

Генерално узевши, ово је била једна од идеја водиља за дизајнирање и спровођење ове студије. На жалост, клиничке студије које проучавају ову проблематику захтевају комплексну логистику и дизајн који је често немогуће применити у пракси због чега се последњих година пажња научне јавности усмерава ка анималним моделима истраживања.

5.1. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на телесну тежину пацова

Први подаци до којих смо дошли у студији су се односили на прираст телесне тежине животиња током четири недеље апликације испитиваних једињења. Овом приликом смо желели да утврдимо да ли и у којој мери постоји утицај цисплатине и различитих комплекса односно лиганда на телесну масу пацова тј. какве су разлике између ових агенаса. На овај начин бисмо такође могли да дођемо до важних и не толико истраживаних информација о ефектима ових цитостатика на метаболизам организма у целини.

Резултати које смо добили су показали да су ефекти испитиваних једињења различити. Наиме, уколико изузмемо групе којима је примењиван физиолошки раствор односно DMSO и код којих очекивано није било ометања у прирасту телесне тежине животиња у осталим групама су се добили интересантни налази (Табела 4.1). Тако је администрација лиганда O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3) и Pt(IV) комплекса са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (K_3) такође била повезана са неометаним растом животиња током експерименталног протокола.

За разлику од овог налаза у групама које су третиране цисплатином и Pd(II) комплексом са O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноат дихидрохлоридом (PdL_3) је дошло до значајног смањења телесне масе животиња током четири недеље праћења.

Изразити губитак телесне тежине услед дуготрајне примене цисплатине се може окарактерисати као очекиван и добро познат резултат како из клиничке праксе тако и из експерименталних истраживања на анималним моделима (140-142). Тако је у једној од последњих студија из 2018. године доказано да три недеље апликације цисплатине у дози од 5 mg/kg код пацова изазива драстичан губитак у телесној тежини који је уз то и праћен изразитим смањењем узимања хране (141). Губитак телесне масе је у овом истраживању био у складу са редукцијом тежине испитиваних органа (јетре и бубрега) (141).

Механизми добијених ефеката могу бити различити и често удружени. У том смислу, добро је познато да цисплатина поседује јако еметичко дејство. Cabezos и сарадници наводе да овај антинеопластични агенс дозно зависно изазива застој и дистензију желуца (143). Такође, дистензија желуца може бити повезана са задржавањем хране.

Други аутору су уочили да пацови третирани цисплатином имају смањен мотилитет желуца односно настаје смањење локомоторне активности и покретљивости желуца што доприноси истим налазима (144-146).

На тај начин сазнања садашње и свих поменутих студија потпуно једногласно указују и потврђују снажан утицај цисплатине у редукцији тежине органа, телесној тежини и апетиту пацова који се одвија активацијом неког од описаних механизма.

Са друге стране, PdL3 комплекс је такође довео до значајног смањења телесне тежине наших пацова и то може бити последица сличних механизма путем којих цисплатина изазива ове исте ефекте будући да паладијумски комплекси имају структурну аналогију са комплексима који садрже платину (129).

Добијени налази указују да лиганд самостално (L_3) и у оквиру Pt(IV) комплекса не ремети метаболичке процесе у организму тј. не омета нормалан прираст телесне тежине пацова, док у комбинацији са паладијумом ови нежељени ефекти нису избегнути. Ови резултати могу бити од значаја с обзиром да показују да само одговарајућа комбинација металних јона и лиганда обезбеђује сигурну употребу ових цитостатских агенаса са поменутог аспекта.

5.2. Утицај хроничне примене испитиваних једињења на биохемијске маркере пацова

Праћењем биохемијских параметара пацова смо желели да испитамо какав је ефекат испитиваних једињења на различите органске системе пацова односно какав системски учинак остварују. Поред тога, циљ је био да се утврде разлике међу групама тј. да се компарирају добијени резултати нарочито са аспекта поређења са цисплатином.

Липидни статус пацова је процењиван одређивањем вредности стандардних параметера: укупног холестерола, HDL и LDL холестерола као и триглицерида. Наши резултати су показали да иако су најниже вредности свих липидних фракција пронађене у групи која је примала физиолошки раствор није постојала статистички значајна разлика у испитиваним параметрима између група. Ови налази сугеришу да ниједан од испитиваних цитостатских агенаса није утицао на липидни метаболизам животиња.

Из добијених резултата се уочава да су вредности маркера липидног статуса биле највише у групи која је примала цисплатину (Табела 4.2). Ипак изостанак статистичке разлике може бит последица недовољног времена експозиције односно претпоставке да би на основу добијеног тренда било за очекивати да би дужи третман цисплатином узроковао значајне промене метаболизму липида. Ови налази су у потпуности у сагласности са добро познатом чињеницом да је један од механизма путем кога цисплатина изазива кахексију управо стимулација липолизе и ензима укључених у овај процес што изазива хиперлипидемију (147, 148). Ову тврдњу су доказале бројне студије спроведене недавних година у којима је забележен пораст вредности свих фракција липидног метаболизма (VLDL, LDL и HDL- холестерола) као последица активације липолитичких процеса од стране цисплатине.

Праћењем вредности биохемијских показатеља функције бубрега (урее и креатинина) желели смо да испитивамо какав је утицај примењених једињења на овог органа пацова. Потпуно очекивано, најниже вредности урее и креатинина су уочене у контролној групи док су највише вредности овог маркера биле у групи која је примала K₃ једињење. У случају креатинина, највише вредности су забележене у групи третираној L₃ једињењем (Табела 4.3). Иако концентрације ових параметара између група варирају, одсуство статистичке значајности указује да заправо правих разлика у резултатима између

примењених агенаса није било. Осим тога, као и у случају маркера липидног профила, све вредности су се кретале у физиолошком опсегу за пацове ове старосне доби и пола (149, 150), што индикује да је апликација свих једињења у примењеним дозама и времену експозиције била потпуно безбедна и није изазвала значајнија варирања у концентрацији урее и креатинина односно пореметила функцију бубрега.

У литератури се са аспекта компарације са садашњом студијом могу наћи углавном подаци који се односе на примену цисплатине. Већина недавних студија које су проучавале ову проблематику на анималним моделима је показала да примена високих доза цисплатине (7,5 mg/kg и 8 mg/kg) у трајању од 10 дана код пацова изазива повећање вредности урее и креатинина које је било праћено хистолошки потврђеним оштећењима бубрега (151, 152). Ипак разлика у односу на наше истраживање може произаћи из чињенице да је у поменутим студијама било реч о знатно вишим дозама овог цистостатика тј. о ефектима акутног тровања.

Осим бубрега, јетра је била следећи орган од интереса кога смо проучавали. Резултати које смо добили имају идентичан тренд као приликом увида у функцију бубрега. Наиме, најниже концентрације биохемијских маркера рада јетре (укупни протеини и албумини) запажене су у групи третираној физиолошким раствором. Са друге стране, највише вредности укупних протеина су биле код пацова третираних цисплатином, а албумина у групи која је примала лиганд (L_3) (Табела 4.4). Будући да разлика између група није било и да су све забележене вредности биле у опсегу референтних вредности можемо да констатујемо да примена свих испитиваних агенаса није била повезана са поремећајем функције јетре односно нови комплекси и лиганди нису остварили супериорнији ефекат у односу на цисплатину.

Може се претпоставити да би резултати били другачији тј. да би тренд раста превазишао нормалне вредности уколико би период експозиције овим једињењима био дужи а примењена доза већа. Ово су показале и најновије студије на пацовима у којима је запажено да примена високих доза цисплатине (10 mg/kg) узрокује снажну хепатотоксичност која је биохемијски и хистопатолошки потврђена (153, 154).

Након сумације свих налаза који се односе на биохемијске маркере за процену функције јетре, бубрега и липидног статуса можемо закључити да сви испитивани агенци који су били администрирани у примењеној дози и дужини експозиције од четири недеље

нису били повезани са биохемијским променама функције јетре и бубрега односно липидног метаболизма и са овог становишта могу бити безбедни за употребу. Осим тога, нови лиганд (L_3) и његови комплекси са четворовалентном платином $[PtCl_4\{(S,S)-Et_2eddch\}]$ (K_3) и двовалентним паладијумом $[PdCl_2\{(S,S)-Et_2eddch\}]$ (PdL_3) нису показали позитивнији ефекат на испитиване агенсе у односу на цисплатину.

5.3. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L_3), његових комплекса $[PtCl_4\{(S,S)-Et_2eddch\}]$ (K_3), $[PdCl_2\{(S,S)-Et_2eddch\}]$ (PdL_3) и цисплатине на кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца пацова

Централни задатак садашњег истраживања се односио на процену ефеката новог лиганда односно његових комплекса са четворовалентном платином и двовалентним паладијумом као и компарацију добијених налаза са цисплатином. На овај начин смо покушали да испитамо да ли неки од потенцијално нових хемиотерапеутика може да оствари супериорнији утицај на функцију и перфузију изолованог срца пацова у односу на цисплатину.

Истраживања која су проучавала дејства новосинтетисаних комплекса платине и паладијума на кардиоваскуларни систем уопште а поготово на срчани мишић су оскудна у тек последњих година постала заступљена. У студији Мишића и коаутора је испитиван утицај тридесетоминутне перфузије више комплекса платине (дихлоро-(1,2-диаминоциклохексан)платина(II) ($Pt(II)DACHCl_2$), дихлоро-(етилендиамин)платина(II) ($Pt(II)ENCl_2$), тетрахлоро-(1,2-диаминоциклохексан)платина(IV) ($Pt(IV)DACHCl_4$) и тетрахлоро-(етилендиамин)платина (IV) ($Pt(II)ENCl_4$)) у пет различитих доза (10(-8), 10(-7), 10(-6), 10(-5) и 10(-4)) на изоловано срце пацова (155). Ова студија је показала да док цисплатина свој акутни утицај на срце остварује и на миокард и на коронарни ендотел, нови комплекс платине су ограничили своје дејство само на коронарну циркулацију. Из овога се запажа да нови комплекс са платином(II) платином(IV) имају негативан утицај на функцију срца пацова у односу на цисплатину. Ипак ове налазе треба посматрати са резервом будући да је реч о акутном и директном дејству платинумских комплекса који у клиничким условима могу да буду аналогни са евентуалним токсиколошким ефектима нових цитостатика на бази платине.

Због тога је са аспекта компарације са садашњом студијом много корисније узети у обзир резултате недавне студије у којој је измеђуосталог проучаван хроничан утицај цисплатине на кардиодинамске параметре срца перфундованог по Лангендорфу (156). Аутори су показали да петонедељна примена цисплатине у дози од 5 mg/kg може бити изазвати бројне штетне ефекте на изолованом срцу пацова од поремећаја кардиодинамике до смањења коронарног протока (156).

Током последњих деценија се јако увећао број студија које су проучавале утицаје цисплатине на кардиоваскуларни систем уопште. Међутим ефекти цисплатине на функцију самог срчаног мишића и поготово на коронарну реактивност су малобројне и доносе углавном неконзистентне резултате.

Кардиоваскуларне компликације повезане са конвенционалном хемиоотерапијом су добро познати проблеми у онколошким студијама. Добро је позната срчана токсичност која је резултат третмана цисплатином (157). Кардиотоксични ефекти изазвани цисплатином се могу манифестовати кроз промене у електрокардиографском запису (158, 159) које укључују појаву вентрикуларних аритмија, суправентрикуларних тахикардија, атријалних фибрилација, повремену синусну брадикардију и комплетан атриовентрикуларни блок (160, 161). Миокардитис, перикардитис и ангина су такође забележени код срчане токсичности узроковане цисплатином (162, 163). У другим студијама је забележен чак и акутни инфаркт миокарда, аутономна кардиоваскуларна дисфункција (164, 165), хипертензија и хипотензија (166, 167). Индукција коронарног вазоспазма (која може довести до коронарне болести) и васкуларне ендотелне повреде услед повећаног вон Вилебрандовог фактора (кога ослобођају оштећене ендотелне ћелије) се такође убрајају у кардиоваскуларне догађаје повезане са кардиотоксичношћу изазваном цисплатином (160). У крајњем сви поменути кардиотоксични (и други потенцијално непознати) догађаји на крају доводе до конгестивног застоја срца и изненадне срчане смрти.

Механизми путем којих цисплатина изазива поремећаје на нивоу кардиоваскуларног система су сложени и непотпуно разумљиви. Међутим, резултати неколико експерименталних студија указују на секвенцијални пут оштећења, који укључује (1.) улогу мембранских транспортера (2.) конверзију цисплатине у токсичне метаболите; (3.) индукцију оштећења нуклеарног и митохондријског ДНК; (4.) поремећај

јонске хомеостазе (5.) улогу оксидационог стреса и митохондријске дисфункције; (6.) индукцију запаљења; и (7.) активирање апоптотских процеса.

Недавне студије су откриле постојање два различита мембранска транспортера способна за транспорт цисплатине. У бубрегу, цисплатина се транспортује у ћелије бубрежних тубула олакшаном дифузијом, што доводи до несразмерне акумулације овог цитостатика и последичне нефротоксичности. Неколико аутора је идентификовало базолатерални органски катјонски транспортер (*basolateral organic cation transporter*, *OCT*), који је повезан са уносом цисплатине у проксималне тубуларне епителне ћелије (168, 169). До сада су идентификоване три изоформе OCT-а (OCT1, OCT2 и OCT3) код људи. Ипак, сматра се да је OCT2 главни органски транспортер који транспортује цисплатину у ћелију и тиме доприноси цитотоксичности у проксималним тубулима бубрега животиња и људи (168, 169). Занимљиво, иако OCT2 није експримиран у срчаном ткиву људи, одређен број других OCT-а је идентификован приликом транспорта лекова за терапију срчаних обољења у кардиомиоците (170).

Поред OCT2, високо афинитетни транспортер бакра (*high-affinity copper transporter*) *CTR1*, такође је идентификован као посредник у транспорту цисплатине у ћелије сисара, иако у мањој мери (171). За разлику од OCT2 који се експримира само у тубуларним ћелијама бубрега, *CTR1* се експримира и у срчаном ткиву (172, 173). Иако тренутно не постоје *in vivo* подаци о специфичној улози *CTR1* у токсичности изазваној цисплатином, *in vitro* студије су показале да нисходна регулација *CTR1* доводи до смањењеног транспорта цисплатине и редукције цитотоксичности (171), што сугерише да *CTR1* игра важну улогу у уносу цисплатине у проксималне тубуларне ћелије и / или кардиомиоците.

Студије на анималним моделима указују да је цисплатина протоксин који путем метаболичке трансформације може да се конвертује у много токсичнији нефротоксин када се транспортује у епителне ћелије бубрежних тубула. Процес метаболичке трансформације цисплатине почиње када се цисплатина веже за глутатион, природни антиоксиданс у тубуларним ћелијама бубрега, и формира коњугате глутатиона, катализоване ензимом глутатион-С-трансфераза Пи (*glutathione-S-transferase Pi (GSTP)*) (173).

Коњугати глутатиона затим пролазе кроз тубуларне ћелије и цепају се у цистеинил-глицин-коњугате и цистеин-коњугате, са гама-глутамил транспептидазом и

аминотрансферазом H, који су обилно експримирани на површини плазма мембране тубуларних ћелија проксималних тубула (173, 174). Цистеин-коњугати се транспортују у проксималне тубуларне ћелије, где се подвргавају даљој метаболичкој конверзији путем цистеин-S-коњугата бета-лијазе (cysteine-S-conjugate beta-lyase (CCBL)) у високо реактивне цистеин тиоле (173, 174). Везивање реактивног цистеин тиола за есенцијалне протеине унутар проксималних тубуларних ћелија доводи до токсичности. Иако се у срцу није проучавала појава метаболичке токсификације цисплатине помоћу гама-глутамил транспептидазом, врло је мало вероватно да овај пут игра улогу у посматраној кардиотоксичности цисплатине, јер није детектована експресија гама-глутамил транспептидазе у ткиву срца људи (173, 174).

Цисплатина формира интраланчане и интерланчане унакрсне везе са ДНК ланцима. Формирани ДНК адукт активира каскаду ћелијских догађаја што кулминира у митохондријском и нуклеарном оштећењу ДНК и смрти ћелија у бубрежним проксималним тубулима (173, 175, 176). Такође, ДНК адукт инхибира даљу синтезу ДНК, ћелијски циклус и репликацију, што доводи до нарушене репликације и транскрипције и на крају апоптозе тубуларних ћелија бубрега (173, 176, 177). На моделу срчане токсичности пацова изазване цисплатином, El-Awady и сарадници (178) учили су значајна оштећења у нуклеарној и митохондријској ДНК. Пошто ћелије које се брзо деле, укључујући и ћелије рака, показују високу осетљивост на оштећење ДНК, неки аутори тврде да је антиканцерогено својство цисплатине у великој мери последица формирања ДНК адуката (176).

Други су предложили митохондријску ДНК или друге митохондријалне делове као најчешћа везујућа места за везивање цисплатина због њених слабих способности за поправку оштећења (177, 179). Осим нуклеарне и митохондријске ДНК, студије такође истичу ефекат цисплатина на РНК, протеине и фосфолипиде (180).

Неке студије су показале да цисплатина ремети јонску хомеостазу и транспорт воде у бубрежним тубуларним ћелијама, што доводи до смањења стопе реапсорпције јона дуж нефрона и на крају повећања нивоа ових јона у урину (181-183).

Експресија аквапорина 1 и 2, као и $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ ко-транспортера и тип III Na^+/H^+ измењивача у спољашњој области медуле је смањена након третмана цисплатином (182).

У *in vitro* и *in vivo* моделима реналне токсичности под утицајем цисплатине је забележена смањена активност Na^+/K^+ АТФ-азе (α -подјединица) и тиме тубуларна дисфункција (182).

Цисплатина може такође да поремети енергетски статус кардиомиоцита дејством на митохондрије. Наиме оштећењем функције ове органеле настаје смањена производња АТФ-а и последично смањење ћелијских енергетских резерви што је инкомпатибилно са животом ћелије. Механизми којима цисплатине изазива смањену продукцију енергије у митохондријама су још увек недовољно разјашњени иако су неке *in vitro* студије показале да је овај цитостатик потентни инхибитор оксидације масних киселина који су главни ћелијски извор енергије (173, 184, 185). Исти аутори су доказали да цисплатина утиче и на рад цитохром ц оксидазе који је кључни ензим у процесу респираторног ланца митохондрија, што опет води ка смањењу концентрације АТФ-а (173, 184, 185).

Осим поменутих механизма индукција инфламаторног одговора је такође незаобилазни и свеприсутни медијум за кардиотоксичност изазвану цисплатином. Инфламацијски системи се активирају након токсичног дејства било ког агенса као одговор на ткивно оштећење (186).

Бројни докази показују да цисплатина стимулише продукцију широког спектра инфламаторних цитокина и хемокина као што је транслокација редокс-сензитивног нуклеарног капа бета В (NF- κ B) из цитосола у једро, што узрокује синтезу фактора некрозе тумора алфа (TNF- α) који је један од кључних про-инфламаторних цитокина укључених у инфламацијске догађаје кардиомиоцит (187). Истраживања на пацовима и мишевима су забележила да цисплатина изазива снажну активност миокардних мијелопероксидаза и тиме оштећује морфологију а потом и функцију срца сисара (187). Молекулски механизми цисплатином индуковане инфламације подразумевају ослобађање молекула повезаних са оштећењем (damage-associated molecular pattern molecules, DAMPs) који изазивају активацију тол-лике рецептора 4 (toll-like receptor 4, TLR4) и последичну продукцију TNF- α од стране имуних ћелија (188).

Апоптоза може бити такође важан механизам у индукцији кардиотоксичности под утицајем цисплатине. Студије на *in vivo* и *in vitro* моделима цисплатином изазване кардиотоксичности управо показују укључење многобројних интрацелуларних догађаја од којих већина интерферира са митохондријама (177, 178, 189). Наиме, цисплатина узрокује активацију про-апоптотских протеина из Bcl-2 фамилије (Бах и Бах), што доводи до

отварања митохондријалних пермеабилних пора (mitochondrial permeability transition pores, MPTPs), водећи у ослобађање про-апоптотских фактора као што су цитохром ц, ендонуклеаза G, и апоптотски-индукциони фактор (apoptosis-inducing factor, AIF) из митохондрија у цитосол (189, 190). Цитохром ц потом активира каспазу 9 која активира већи број каспаза и индукцију апоптозе (189, 190).

За разлику од тога, ендонуклеаза G и AIF подлежу транслокацији и акумулацији у нуклеусу након ослобађања из митохондрија што такође доводи до апоптозе (191). Недавне студије на мишевима су указале да цисплатина може да узрокује активацију ендоплазматског стреса. Каспаза 3 која се налази у ендоплазматском ретикулуму је кључни ензим који покреће процес ендоплазматског стреса и потом последичну апоптозу (191).

Са друге стране у нашој студији су добијени занимљиви налази. Генерално посматрано, хронична апликација L_3 лиганда, K_3 и PdL_3 комплекса није била повезана са променама кардиодинамских варијабли током ауторегулаторног ранга односно није пореметила функцију и перфузију срца у периоду ауторегулације (Графици 1, 3, 5). Ови налази показују да у примењеној дози и дужини експозиције ниједно од нових једињења није оштетило функцију изолованог срца пацова тј. нису остварили кардиодепресивни ефекат. На овај начин у погледу срца и коронарне циркулације изгледа да не постоје препреке за њихову употребу.

Приликом компарације дејстава L_3 лиганда, K_3 и PdL_3 комплекса може се уочити да су два доминантна кардиодинамска параметра која описују контрактилну и релаксантну способност срца (инотропни и лузитропни потенцијал) била најочуванија у групи која је третирана платинским комплексом (K_3) у односу лиганд (L_3) и поготово паладијумов комплекс (PdL_3) у чијој су групи забележени најлошији резултати (Графици 7а – 7д). Уопштено анализирано са аспекта поређења између свих поменутих агенаса може се запазити да су ослабије вредности свих кардиодинамских маркера и коронарног протока биле забележене у групи која је третирана паладијумовим комплексом (PdL_3).

Ови налази сугеришу да је паладијум у комбинацији са испитиваним лигандом (L_3) оставрио најдепресивније дејство како на систолну и дијастолну функцију срца тако и на коронарну ауторегулацију ометајући на тај начин нормални опсег рада изолованог срца пацова.

Резултати из групе којој је апликована цисплатина показују да у примењеном експерименталном протоколу ни цисплатина није изазвала важније промене функције и пефузије срца пацова током ауторегулаторног ранга (График 8). У том смислу, може се запазити да цисплатина не оштећује физиолошки ранг рада изолованог срца пацова.

Уколико компарирамо кардиодинамске ефекте нових комплекса и лиганда и цисплатине можемо уочити да су вредности свих кардиодинамских показатеља биле боље након хроничне апликације цисплатине у односу на потенцијално нове цитостатике. Осим тога, коронарна реактивност је такође била најефикаснија приликом третмана цисплатине.

На основу ових резултата може се закључити да у примењеној дози и временском интервалу експозиције новосинтетисана једињења нису остварила супериорнији ефекат на функцију изолованог срца пацова и коронарну циркулацију од цисплатине.

5.4. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L3), његових комплекса [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}]] (K3), [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL3) и цисплатине на срчане и системске про-оксидационе параметре пацова

У литератури се као један од главних механизма кардиотоксичних ефеката цисплатине помиње индукција оксидационог стреса (156, 192-194). Ова чињеница је и нас навела да испитивамо како системски тако и оксидациони статус самог изолованог срца пацова. На овај начин смо покушали да утврдимо да ли и у којој мери постоји корелација између кардиогених дејстава цисплатине и других испитиваних једињења и редокс хомеостазе код пацова. Осим тога, желели смо да компарирамо оксидациони потенцијал цисплатине и нових комплекса и њиховог лиганда. С тим у вези, прегледом диступних база података може се уочити да је ово једна од ретких студија у којој је процењиван и срчани и системски оксидациони стрес са циљем формирања комплетне редокс слике.

Цисплатина може да промени редокс баланс ћелија активацијом процеса коњугације и тиме умањи активност главног интраћелијског антиоксидационог ензима глутатиона. Осим тога, коњугацијом се може пореметити и циклус митохондријалне респирације на начин повећане продукције слободних радикала током оксидативне фосфорилације у митохондријама. Поред цитоплазматске показана је и смањена

концентрација ензима глутатионског циклуса у плазми након хроничне употребе цисплатине код људи (195, 196).

Као последица третмана цисплатином може настати и повећан степен липидног оштећења ћелијских мембрана (липидне пероксидације) што је закључак многих студија у последње две деценије (197-199).

У нашој недавној студији смо указали да промене миокардне концентрације главних антиоксидационих ензима заштите могу настати управо као одговор на повећану продукцију индекса липидне пероксидације и осталих про-оксидационих маркера након хроничне апликације цисплатине код пацова (156). El-Awady и сарадници (178) су међутим на другом моделу показали да концентрације могу да буду и снижене у пацова третираних цисплатином.

Велики број података сугерише да акумулација цисплатине у митохондријалном матриксу узрокује функционисање респираторног ланца и ексцесивну продукцију слободних радикала (173, 175, 200, 201). Овако настали митохондријални оксидациони стрес потом индукује каскаду догађаја који воде у митохондријалну дисфункцију и активацију сигналних молекула и транскрипцију про-апоптотских гена који у крајњем подстичу смрт ћелије (173, 175, 189, 191). Завидан број митохондрија у кардиомиоцитима као и велика зависност рада ових ћелија од поменутих органела може сигурно бити одговорно за предиспозицију овог органа ка токсичним оштећењима цисплатине (175, 189, 191).

Праћењем оксидационих биомаркера у коронарном венском ефлуенту смо желели да испитамо какав је одговор срчаних про-оксиданаса на хронични третман цисплатине и других испитиваних једињења односно да стекнемо увид у интракардијални оксидациони статус. У том смислу ово је била једна од ретких студија која је проучавала динамику ослобађања различитих индикатора оксидационог оштећења директно из срчаног мишића.

У једној од ретких студија која је имала сличан дизајн са аспекта хроничне примене цисплатине и одређивања срчаних про-оксидационих маркера је између осталог проучаван утицај петонедељне примене овог цистостатика у дози од 5 mg/kg маркере срчаног оксидационог стреса (156).

Аутори су уочили да је третман пацова цисплатином узроковао повећано ослобађање и супероксид анијон радикала (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2) из изолованог

срца пацова што корелира са сазнањима садашње студије. У другој студији сличног протокола је доказано да једнократна примена цисплатине у високој дози од 20 mg/kg може да изазове изражену липидну пероксидацију кардиомиоцита и да умањи активност срчаних антиоксидационих ензима (SOD и CAT) (202). Истраживање на културама мишијих ћелија H9c2 је указало да цисплатина може и у овим условима да изазове велику продукцију супероксид анјон радикала и тиме покрене апоптозну каскаду (203), што може бити један од механизма кардиотоксичног ефекта.

Наши резултати су показали да је у изолованом срцу веће ослобађање најпотентнијих мерених реактивних кисеоничних врста - супероксид анјон радикала (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2) било повезано са хроничном применом цисплатине, лиганда (L_3) и платинским комплексом (K_3), док су у случају паладијумског комплекса (PdL_3) вредности поменутих биомаркера биле најниже (График 20).

Будући да није забележена разлика између цисплатине и платинског комплекса (K_3) можемо закључити да нови платински комплекс није остварио мањи про-оксидациони ефекат у срцу односно да не поседује нижи оксидациони потенцијал од цисплатине. Осим тога, наши налази сугеришу да у односу лиганд (L_3) и платинумски комплекс (K_3), нови паладијумски комплекс (PdL_3) може бити најбезбеднији у погледу срчаних оксидационих оштећења.

Један од потенцијалних разлога за овакав резултат може бити присуство другог метала (паладијума) у самом комплексу уместо платине. Наиме, у једном од ранијих истраживања на културама кардиомиоцита пацова је проучаван утицај комплекса паладијума и алфа-липолне киселине на респираторни ланас митохондрија и продукцију слободних радикала током овог процеса. Сугерисано је да паладијум у овом комплексу може да помогне у ефикаснијем одвијању митохондријалног дисања и тиме рационалнијој и уравнотеженој производњи слободних радикала, што може да буде повезано са мањим оксидационим оштећењима кардиомиоцита поготово током интензивних контракција и потребе за енегријом (204).

Међутим, треба имати на уму да је број студија које су се бавиле овом проблематиком изузетно оскудан и нерепрезентативан да би послужио компарацији са овим истраживањем.

Поред тога, подаци који у помињани у претходној студији се морају узети са резервом будући да су базирани на потпуно различитом дизајну у односу на нашу студију. Ове чињенице нас зато наводе на тврдњу да су за прецизније и сигурније извођење закључака поводом ове тематике потребна нова и комплекснија истраживања.

Као што је напоменуто, у садашњој студији се осим срчаног пратила динамика и маркера системског оксидационог стреса путем одређивања концентрације поменутих про-оксиданаца као и активности ензима антиоксидационе заштите. На овај начин се омогућава комплетан увид у системску редокс хомеостазу пацова.

Наши резултати су показали да је највеће системско ослобађање супероксид анјон радикала (O_2^-) било повезано са хроничном применом комплекса четворовалентне платине (K_3), док је липидна пероксидација била најизраженија након апликације самог лиганда (L_3) (График 24). С обзиром да је повећана продукција поменутих про-оксидационих биомаркера забележена након апликације лиганда (O,O'-диетил-(S,S)-етилендиамин-N,N'-ди-2-(3-циклохексил) пропаноата (L_3)), како самостално тако и у комплексу са Pt(IV), очигледно је да оба новосинтетисана једињења могу потенцирати настанак системског оксидационог стреса и тиме евентуална оксидациона оштећења.

Осим ових запажања из наших резултата се могу извести додатне смернице. Прво, у свим наведеним случајевима најниже вредности већине мерених про-оксиданаса су биле уочене у групи којој је администриран двовалентни паладијумски комплекс (PdL_3), што је било запажено и приликом анализе срчаних про-оксидационих параметара.

Ови налази индикују да нови паладијумски комплекс (PdL_3) остварује најмањи про-оксидациони потенцијал који може бити последица приуства паладијума уместо платине (205). На овај начин би се и могло објаснити како у једном комплексу (PdL_3) нови лиганд (L_3) стимулише веће а у другом комплексу (K_3) стимулише мање ослобађање реактивних кисеоничних врста и њихових индикатора.

Друго, интересантно је да у поређењу са цисплатином ниједно од поменутих новосинтетисаних једињења није показало мањи про-оксидациони потенцијал, на основу чега можемо да закључимо да у погледу системског про-оксидационог одговора цисплатина (у овој дози и дужини експозиције) и даље има пожељнији ефекат од новог испитиваног лиганда и његових комплекса са платином и паладијумом.

Са аспекта компарације ових резултата са биомаркерима оксидационог стреса пореклом из изолованог срца може се уочити да цисплатина остварује супротна оксидациона дејства у срцу и организму у целини, док паладијумски комплекс (PdL₃) у оба случаја има конзистентно мање штетан утицај у односу на лиганд (L₃) и платински комплекс (K₃). У том смислу чини се да се оксидациони ефекти металних анти-неопластичних једињења морају посматрати и изоловано и системски будући да не морају обавезно имати идентичан учинак на нивоу појединачног органа и целокупног организма.

5.5. Утицај хроничне адиминистрације лиганда (L₃), његових комплекса [PtCl₄{(S,S)-Et₂eddch}] (K₃), [PdCl₂{(S,S)-Et₂eddch}] (PdL₃) и цисплатине на параметре антиоксидационог система заштите пацова

У циљу формирања комплетне редокс слике и процене системског редокс баланса пацова након апликације испитиваних једињења, поред про-оксидационих индикатора код пацова смо одређивали и активност главних антиоксидационих ензима заштите (SOD – супероксид дисмутаза, CAT – каталаза и GSH – редукованог глутатиона).

Као што је познато цитостатици осим појачане продукције реактивних кисеоничних и азотних врста могу изазвати и депресију активности антиоксидационог система заштите (192-194, 202, 203). На тај начин се умањује способност одржавања оксидационе контроле односно неутрализација акумулираних слободних радикала и других поменутих молекула што додатно потенцира настанак оксидационог стреса и тиме оштећења ћелија. Управо је ово један од главних механизма кардиотоксичног дејства цисплатине и сличних једињења (175, 189, 191).

У претходно спроведеном истраживању је измеђуосталог испитиван утицај цисплатине примењене у дози од 7 mg/kg на ензиме антиоксидационе заштите у срцу пацова. Забележено је да је активност свих одређиваних антиоксидационих ензима (редукованог глутатиона GSH, глутатион пероксидазе GPx и каталазе CAT) била драстично снижена у ткиву срца што је било у корелацији са патохистолошким оштећењима срчаног мишића (206).

Busari и сарадници су у недавно публикованој студији проучавали ефекат цисплатине на серумске концентрације SOD, CAT, и GSH и указали да је шестодневни третман овим цитостатиком био повезан са смањеном концентрацијом поменутих ензима и повећаном продукцијом системских маркера функције различитих органа (207).

Са друге стране поред повезаност цисплатине и антиоксидационих ензима не мора увек да има један смер односно да цисплатина утиче односно мења ензимску активност као што је доказано у великом броју студија. Наиме, последња истраживања су сугерисала и да антиоксидативни ензими тј. њихови доноси примењени екзогено могу да делују на овај цитостатик. Тако је уочено да Темпол као миметик супероксид дизмутазе примењен током седам дана у дози од 50 mg/kg може да ублажи нефротоксично дејство цисплатине и да снажно мобилише активност ендогених ензима у бубрегу SOD и GSH (208). Сва ова сазнања указују да је интеракција цисплатине и ензимских антиоксиданаса веома заступљена, може се одвијати у оба правца и као таква јесте јако важна у оксидационим ефектима цисплатине и умањењу штетних ефеката исте.

За разлику од добро проучених утицаја цисплатине на антиоксидациони систем заштите, утицаји других металних цитостатских агенаса је много мање познат док су истраживања на ову тему веома ретка. Раније студије су показале да паладијумски јони могу да инхибирају активност већине интраћелијских ензима, док је његова метална форма нетоксична, што може бити корисно у објашњењу и наших резултата (209-212).

Поред тога, постоје индикације да је паладијум у облику органских једињења не само нетоксичан, већ може да испољи и антиоксидациона својства (204, 213). Најбоњи пример за ову тврдњу је алфа-липоична киселина чији су антиоксидациони ефекти пет пута јачи у комплексу са паладијумом (213).

У једној од ретких студија која се односила на ову проблематику је испитиван ефекат комплекса паладијума и алфа-липоичне киселине на хипергликемију и антиоксидациони статус дијабетичних пацова (214). Након 5 дана примене комплекса у дози од 0,5 ml/kg аутори су уочили да су активности супероксид дизмутазе, редукованог глутатиона, глутатион пероксидазе и каталазе биле значајно повећане. Са аспекта компарације са нашом студијом важно је напоменути да је паладијум у овом случају био везан за алфа-липоичну киселину која поседује изразита антиоксидациона својства те се и у томе може потражити објашњење за овакав ефекат паладијума.

Са друге стране, наши резултати су показали да је третман новосинтетисаним једињењима (L_3 , K_3 и PdL_3), иако не статистички, био повезан са већим вредностима супероксид дизмутазе и редукованог глутатиона док је активност каталазе била изразито већа након апликације лиганда (L_3) у компарацији са цисплатином (График 28). На овај начин изгледа да нова испитивана једињења могу бити ефикаснија у стимулацији антиоксидационе ензимске заштите у односу на цисплатину.

Може се претпоставити да би након дуже експозиције испитиваним једињењима ова разлика у односу на цисплатину била сигнификантна и евидентнија. Осим тога, ови налази сугеришу да пре свега нови лиганд (L_3) али и његови комплекси са четворовалентном платином (K_3) и двовалентним паладијумом (PdL_3) имају респектабилан и обећавајући потенцијал ка мобилизацији антиоксидационих ензима. Узевши у обзир овај њихов ефекат чини се да би са овог аспекта требало да завреде већу пажњу будућих истраживања.

VI. ЗАКЉУЧЦИ

На основу резултата добијених у овој студији можемо извести следеће закључке:

1. За разлику од цисплатине, лиганд самостално (L_3) и у оквиру $Pt(IV)$ комплекса не ремети метаболичке процесе у организму тј. не омета нормалан прираст телесне тежине пацова, док у комбинацији са паладијумом ови нежељени ефекти нису избегнути. Ови резултати могу бити од значаја с обзиром да показују да само одређена комбинација металних јона и лиганда обезбеђује сигурну употребу ових цитостатских агенаса са поменутог аспекта.
2. Након сумације свих налаза који се односе на биохемијске маркере за процену функције јетре, бубрега и липидног статуса можемо закључити да сви испитивани агенси који су били администрирани у примењеној дози и дужини експозиције нису били повезани са биохемијским променама функције јетре и бубрега односно липидног метаболизма и са овог становишта могу бити безбедни за употребу.
3. Генерално посматрано, хронична апликација цисплатине, L_3 лиганда и K_3 и PdL_3 комплекса није била повезана са променама кардиодинамских варијабли током ауторегулаторног ранга односно није пореметила функцију и перфузију срца у периоду ауторегулације (Графици 1, 3, 5). Ови налази показују да у примењеној дози и дужини експозиције ниједно од испитиваних једињења није оштетило функцију изолованог срца пацова тј. нису остварили кардиодепресивни ефекат.
4. Наши резултати су показали да је у изолованом срцу веће ослобађање најпотентнијих мерених реактивних кисеоничних врста - супероксид анјон радикала (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2) било повезано са хроничном применом цисплатине, лиганда (L_3) и платинским комплексом (K_3), док су у случају паладијумског комплекса (PdL_3) вредности поменутих биомаркера биле најниже.
5. Најниже вредности већине системских про-оксиданаса су биле уочене у групи којој је администриран двовалентни паладијумски комплекс (PdL_3), што је било запажено и приликом анализе срчаних про-оксидационих параметара. У поређењу са цисплатином ниједно од поменутих новосинтетисаних једињења није показало мањи про-оксидациони потенцијал.

6. Третман новосинтетисаним једињењима (L_3 , K_3 и PdL_3) је био повезан са (несигнификантно) већим вредностима супероксид дизмутазе и редукованог глутатиона док је активност каталазе била изразито већа након апликације лиганда (L_3) у компарацији са цисплатином. На овај начин изгледа да нова испитивана једињења могу бити ефикаснија у стимулацији антиоксидационе ензимске заштите у односу на цисплатину.
7. Ови резултати сугеришу да пре свега нови лиганд (L_3) али и његови комплекси са четворовалентном платином (K_3) и двовалентним паладијумом (PdL_3) имају респектабилан и обећавајући потенцијал ка мобилизацији антиоксидационих ензима. Узевши у обзир овај њихов ефекат чини се да би са овог аспекта требало да завреде већу пажњу будућих истраживања.

VII. ЛИТЕРАТУРА

1. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, Habib G, Lenihan DJ, Lip GY, Lyon AR, Lopez Fernandez T, Mohty D, Piepoli MF, Tamargo J, Torbicki A, Suter TM, Zamorano JL, Aboyans V, Achenbach S, Agewall S, Badimon L, Barón-Esquivias G, Baumgartner H, Bax JJ, Bueno H, Carerj S, Dean V, Erol Ç, Fitzsimons D, Gaemperli O, Kirchhof P, Kolh P, Lancellotti P, Lip GY, Nihoyannopoulos P, Piepoli MF, Ponikowski P, Roffi M, Torbicki A, Vaz Carneiro A, Windecker S; Authors/Task Force Members; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG); Document Reviewers. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur J Heart Fail.* 2017;19(1):9-42.
2. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rozenzweig M, Muggia FM. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med.* 1979;91(5):710-7.
3. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer.* 2013;49(6):1374-403.
4. Yeh ET, Bickford CL. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(24):2231-47.
5. Clark RA, Berry NM, Chowdhury MH, McCarthy AL, Ullah S, Versace VL, Atherton JJ, Koczwara B, Roder D. Heart failure following cancer treatment: characteristics, survival and mortality of a linked health data analysis. *Intern Med J.* 2016;46(11):1297-1306.
6. Raschi E, De Ponti F. Cardiovascular toxicity of anticancer-targeted therapy: emerging issues in the era of cardio-oncology. *Intern Emerg Med.* 2012;7(2):113-31.
7. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, Habib G, Lenihan DJ, Lip GYH, Lyon AR, Lopez Fernandez T, Mohty D, Piepoli MF, Tamargo J, Torbicki A, Suter TM; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016;37(36):2768-2801.
8. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12(9):547-58.
9. Kerkela R, Woulfe KC, Durand JB, Vagnozzi R, Kramer D, Chu TF, Beahm C, Chen MH, Force T. Sunitinib-induced cardiotoxicity is mediated by off-target inhibition of AMP-activated protein kinase. *Clin Transl Sci.* 2009;2(1):15-25.
10. Ewer MS, Lippman SM. Type II chemotherapy-related cardiac dysfunction: time to recognize a new entity. *J Clin Oncol.* 2005;23(13):2900-2.
11. Shelburne N, Adhikari B, Brell J, Davis M, Desvigne-Nickens P, Freedman A, Minasian L, Force T, Remick SC. Cancer treatment-related cardiotoxicity: current state of knowledge and future research priorities. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(9). pii: dju232.
12. Todaro MC, Oreto L, Qamar R, Paterick TE, Carerj S, Khandheria BK. Cardioncology: state of the heart. *Int J Cardiol.* 2013;168(2):680-7.
13. Hall PS, Harshman LC, Srinivas S, Witteles RM. The frequency and severity of cardiovascular toxicity from targeted therapy in advanced renal cell carcinoma patients. *JACC Heart Fail.* 2013;1(1):72-8.

14. Kim KW, Shinagare AB, Krajewski KM, Pyo J, Tirumani SH, Jagannathan JP, Ramaiya NH. Fluid retention associated with imatinib treatment in patients with gastrointestinal stromal tumor: quantitative radiologic assessment and implications for management. *Korean J Radiol.* 2015;16(2):304-13.
15. Ewer MS, Suter TM, Lenihan DJ, Niculescu L, Breazna A, Demetri GD, Motzer RJ. Cardiovascular events among 1090 cancer patients treated with sunitinib, interferon, or placebo: a comprehensive adjudicated database analysis demonstrating clinically meaningful reversibility of cardiac events. *Eur J Cancer.* 2014;50(12):2162-70.
16. Kosmas C, Kallistratos MS, Kopterides P, Syrios J, Skopelitis H, Mylonakis N, Karabelis A, Tsavaris N. Cardiotoxicity of fluoropyrimidines in different schedules of administration: a prospective study. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2008;134(1):75-82.
17. Lestuzzi C, Crivellari D, Rigo F, Viel E, Meneguzzo N. Capecitabine cardiac toxicity presenting as effort angina: a case report. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2010;11(9):700-3.
18. Fukuda A, Tahara K, Hane Y, Matsui T, Sasaoka S, Hatahira H, Motooka Y, Hasegawa S, Naganuma M, Abe J, Nakao S, Takeuchi H, Nakamura M. Comparison of the adverse event profiles of conventional and liposomal formulations of doxorubicin using the FDA adverse event reporting system. *PLoS One.* 2017;12(9):e0185654.
19. Bloom MW, Hamo CE, Cardinale D, Ky B, Nohria A, Baer L, Skopicki H, Lenihan DJ, Gheorghide M, Lyon AR, Butler J. Cancer Therapy-Related Cardiac Dysfunction and Heart Failure: Part 1: Definitions, Pathophysiology, Risk Factors, and Imaging. *Circ Heart Fail.* 2016;9(1):e002661.
20. Miller K, Wang M, Gralow J, Dickler M, Cobleigh M, Perez EA, Shenkier T, Cella D, Davidson NE. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2007;357(26):2666-76.
21. Miller KD, Chap LI, Holmes FA, Cobleigh MA, Marcom PK, Fehrenbacher L, Dickler M, Overmoyer BA, Reimann JD, Sing AP, Langmuir V, Rugo HS. Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(4):792-9.
22. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Steinberg SM, Chen HX, Rosenberg SA. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(5):427-34.
23. Raschi E, De Ponti F. Cardiovascular toxicity of anticancer-targeted therapy: emerging issues in the era of cardio-oncology. *Intern Emerg Med.* 2012;7(2):113-31.
24. Gupta R, Maitland ML. Sunitinib, hypertension, and heart failure: a model for kinase inhibitor-mediated cardiotoxicity. *Curr Hypertens Rep.* 2011;13(6):430-5.
25. Wu S, Chen JJ, Kudelka A, Lu J, Zhu X. Incidence and risk of hypertension with sorafenib in patients with cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2008;9(2):117-23.
26. Herrmann J, Yang EH, Iliescu CA, Cilingiroglu M, Charitakis K, Hakeem A, Toutouzas K, Leeser MA, Grines CL, Marmagkiolis K. Vascular Toxicities of Cancer Therapies: The Old and the New--An Evolving Avenue. *Circulation.* 2016;133(13):1272-89.
27. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008;111(10):4902-7.

28. Levine M, Hirsh J, Gent M, et al. Double-blind randomised trial of a very-low-dose warfarin for prevention of thromboembolism in stage IV breast cancer. *Lancet*. 1994;343:886–889.
29. Couban S, Goodyear M, Burnell M, et al. Randomized placebo-controlled study of low-dose warfarin for the prevention of central venous catheter-associated thrombosis in patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:4063–4069.
30. Verso M, Agnelli G, Bertoglio S, et al. Enoxaparin for the prevention of venous thromboembolism associated with central vein catheter: a double-blind, placebo-controlled, randomized study in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2005;23:4057–4062.
31. Moore RA, Adel N, Riedel E, Bhutani M, Feldman DR, Tabbara NE, Soff G, Parameswaran R, Hassoun H. High incidence of thromboembolic events in patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a large retrospective analysis. *J Clin Oncol*. 2011;29(25):3466-73.
32. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Richardson PG, San Miguel J, Barlogie B, Harousseau J, Zonder JA, Cavo M, Zangari M, Attal M, Belch A, Knop S, Joshua D, Sezer O, Ludwig H, Vesole D, Bladé J, Kyle R, Westin J, Weber D, Bringhen S, Niesvizky R, Waage A, von Lilienfeld-Toal M, Lonial S, Morgan GJ, Orłowski RZ, Shimizu K, Anderson KC, Boccadoro M, Durie BG, Sonneveld P, Hussein MA; International Myeloma Working Group. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia*. 2008;22(2):414-23.
33. Wiczer TE, Levine LB, Brumbaugh J, Coggins J, Zhao Q, Ruppert AS, Rogers K, McCoy A, Mousa L, Guha A, Heerema NA, Maddocks K, Christian B, Andritsos LA, Jaglowski S, Devine S, Baiocchi R, Woyach J, Jones J, Grever M, Blum KA, Byrd JC, Awan FT. Cumulative incidence, risk factors, and management of atrial fibrillation in patients receiving ibrutinib. *Blood Adv*. 2017;1(20):1739-1748.
34. Setteyova L, Bacharova L, Mladosievicova B. QT prolongation due to targeted anticancer therapy. *Oncoreview* 2016;6:A103-112.
35. Chang HM, Moudgil R, Scarabelli T, Okwuosa TM, Yeh ETH. Cardiovascular Complications of Cancer Therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70:2536–51.
36. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, Celmajer D, Denton C, Ghofrani A, Gomez Sanchez MA, Krishna Kumar R, Landzberg M, Machado RF, Olschewski H, Robbins IM, Souza R. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(25 Suppl):D34-41.
37. Bonderman D, Wilkens H, Wakounig S, et al. Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2009; 33:325–31.
38. Ballout FA, Manshad AS, Okwuosa TM. Pulmonary Hypertension and Cancer: Etiology, Diagnosis, and Management. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2017; 19:44.
39. Galie N, Simonneau G. The Fifth World Symposium on Pulmonary Hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62:D1–3.
40. Rasheed W, Flaim B, Seymour JF. Reversible severe pulmonary hypertension secondary to dasatinib in a patient with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2009; 33:861–4.
41. Shah NP, Wallis N, Farber HW, et al. Clinical features of pulmonary arterial hypertension in patients receiving dasatinib. *Am J Hematol*. 2015; 90:1060–4.
42. Cortes JE, Saglio G, Kantarjian HM, et al. Final 5-Year Study Results of DASISION: The Dasatinib Versus Imatinib Study in Treatment-Naive Chronic Myeloid Leukemia Patients Trial. *J Clin Oncol*. 2016; 34:2333–40.

43. Montani D, Bergot E, Günther S, Savale L, Bergeron A, Bourdin A, Bouvaist H, Canuet M, Pison C, Macro M, Poubeau P, Girerd B, Natali D, Guignabert C, Perros F, O'Callaghan DS, Jaïs X, Tubert-Bitter P, Zalcman G, Sitbon O, Simonneau G, Humbert M. Pulmonary arterial hypertension in patients treated by dasatinib. *Circulation*. 2012;125(17):2128-37.
44. Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, Perez-Atayde AR, Sallan SE, Sanders SP. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med*. 1991;324(12):808-15.
45. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rozenzweig M, Muggia FM. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med*. 1979;91(5):710-7.
46. Bristow MR, Billingham ME, Mason JW, Daniels JR. Clinical spectrum of anthracycline antibiotic cardiotoxicity. *Cancer Treat Rep*. 1978 Jun;62(6):873-9.
47. Chlebowski RT. Adriamycin (doxorubicin) cardiotoxicity: a review. *West J Med*. 1979;131(5):364-8.
48. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003;97(11):2869-79.
49. Vejpongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(9):938-45.
50. Pacciarini MA, Barbieri B, Colombo T, Broggin M, Garattini S, Donelli MG. Distribution and antitumor activity of adriamycin given in a high-dose and a repeated low-dose schedule to mice. *Cancer Treat Rep*. 1978;62(5):791-800.
51. Doroshow JH. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res*. 1983;43(2):460-72.
52. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu LS, Lyu YL, Liu LF, Yeh ET. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med*. 2012;18(11):1639-42.
53. Lim CC, Zuppinger C, Guo X, Kuster GM, Helmes M, Eppenberger HM, Suter TM, Liao R, Sawyer DB. Anthracyclines induce calpain-dependent titin proteolysis and necrosis in cardiomyocytes. *J Biol Chem*. 2004;279(9):8290-9.
54. Wouters KA, Kremer LC, Miller TL, Herman EH, Lipshultz SE. Protecting against anthracycline-induced myocardial damage: a review of the most promising strategies. *Br J Haematol*. 2005;131(5):561-78.
55. Colombo A, Cardinale D. Using cardiac biomarkers and treating cardiotoxicity in cancer. *Future Cardiol*. 2013;9(1):105-18.
56. Ewer MS, Ali MK, Mackay B, Wallace S, Valdivieso M, Legha SS, Benjamin RS, Haynie TP. A comparison of cardiac biopsy grades and ejection fraction estimations in patients receiving Adriamycin. *J Clin Oncol*. 1984;2(2):112-7.
57. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, Ganame J, Sebag IA, Agler DA, Badano LP, Banchs J, Cardinale D, Carver J, Cerqueira M, DeCara JM, Edvardsen T, Flamm SD, Force T, Griffin BP, Jerusalem G, Liu JE, Magalhães A, Marwick T, Sanchez LY, Sicari R, Villarraga HR, Lancellotti P. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2014;27(9):911-39.
58. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, Mackey J, Glaspy J, Chan A, Pawlicki M, Pinter T, Valero V, Liu MC, Sauter G, von Minckwitz G, Visco F, Bee V, Buyse M, Bendahmane B, Tabah-Fisch I, Lindsay MA, Riva A, Crown J; Breast

- Cancer International Research Group. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2011;365(14):1273-83.
59. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Sledge GW, Kaufman PA, Hudis CA, Martino S, Gralow JR, Dakhil SR, Ingle JN, Winer EP, Gelmon KA, Gersh BJ, Jaffe AS, Rodeheffer RJ. Cardiac safety analysis of doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel with or without trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 adjuvant breast cancer trial. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1231-8.
 60. Tan-Chiu E, Yothers G, Romond E, Geyer CE Jr, Ewer M, Keefe D, Shannon RP, Swain SM, Brown A, Fehrenbacher L, Vogel VG, Seay TE, Rastogi P, Mamounas EP, Wolmark N, Bryant J. Assessment of cardiac dysfunction in a randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel, with or without trastuzumab as adjuvant therapy in node-positive, human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: NSABP B-31. *J Clin Oncol*. 2005;23(31):7811-9.
 61. Fan L, Goh BC, Wong CI, Sukri N, Lim SE, Tan SH, Guo JY, Lim R, Yap HL, Khoo YM, Iau P, Lee HS, Lee SC. Genotype of human carbonyl reductase CBR3 correlates with doxorubicin disposition and toxicity. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18(7):621-31.
 62. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments: what the cardiologist needs to know. *Nat Rev Cardiol*. 2010;7(10):564-75.
 63. Lipshultz SE, Scully RE, Lipsitz SR, Sallan SE, Silverman LB, Miller TL, Barry EV, Asselin BL, Athale U, Clavell LA, Larsen E, Moghrabi A, Samson Y, Michon B, Schorin MA, Cohen HJ, Neuberg DS, Orav EJ, Colan SD. Assessment of dexrazoxane as a cardioprotectant in doxorubicin-treated children with high-risk acute lymphoblastic leukaemia: long-term follow-up of a prospective, randomised, multicentre trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(10):950-61.
 64. Register S, Takita C, Reis I, Zhao W, Amestoy W, Wright J. Deep inspiration breath-hold technique for left-sided breast cancer: An analysis of predictors for organ-at-risk sparing. *Med Dosim*. 2015 Spring;40(1):89-95.
 65. Legha SS, Benjamin RS, Mackay B, Yap HY, Wallace S, Ewer M, Blumenschein GR, Freireich EJ. Adriamycin therapy by continuous intravenous infusion in patients with metastatic breast cancer. *Cancer*. 1982;49(9):1762-6.
 66. Buzdar AU, Hortobagyi GN, Kau SW, Smith TL, Frascini G, Holmes FA, Gutterman JU, Hug VM, Singletary SE, Ames FC, et al. Adjuvant therapy with escalating doses of doxorubicin and cyclophosphamide with or without leukocyte alpha-interferon for stage II or III breast cancer. *J Clin Oncol*. 1992;10(10):1540-6.
 67. Lipshultz SE, Miller TL, Lipsitz SR, Neuberg DS, Dahlberg SE, Colan SD, Silverman LB, Henkel JM, Franco VI, Cushman LL, Asselin BL, Clavell LA, Athale U, Michon B, Laverdière C, Schorin MA, Larsen E, Usmani N, Sallan SE; Dana-Farber Cancer Institute Acute Lymphoblastic Leukemia Consortium. Continuous Versus Bolus Infusion of Doxorubicin in Children With ALL: Long-term Cardiac Outcomes. *Pediatrics*. 2012;130(6):1003-11.
 68. Pisano C, Cecere SC, Di Napoli M, Cavaliere C, Tambaro R, Facchini G, Scaffa C, Losito S, Pizzolorusso A, Pignata S. Clinical trials with pegylated liposomal Doxorubicin in the treatment of ovarian cancer. *J Drug Deliv*. 2013;2013:898146.
 69. Hortobagyi GN, Yap HY, Kau SW, Frascini G, Ewer MS, Chawla SP, Benjamin RS. A comparative study of doxorubicin and epirubicin in patients with metastatic breast cancer. *Am J Clin Oncol*. 1989;12(1):57-62.

70. van Dalen EC, Michiels EM, Caron HN, Kremer LC. Different anthracycline derivatives for reducing cardiotoxicity in cancer patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(4):CD005006.
71. Zhang S, Liu X, Bawa-Khalfe T, Lu LS, Lyu YL, Liu LF, Yeh ET. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Nat Med.* 2012;18(11):1639-42.
72. Sparano JA, Speyer J, Gradishar WJ, Liebes L, Sridhara R, Mendoza S, Fry D, Egorin MJ. Phase I trial of escalating doses of paclitaxel plus doxorubicin and dexrazoxane in patients with advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17(3):880-6.
73. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, Weisberg S, York M, Spicer D, Jones SE, Wadler S, Desai A, Vogel C, Speyer J, Mittelman A, Reddy S, Pendergrass K, Velez-Garcia E, Ewer MS, Bianchini JR, Gams RA. Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 1997;15(4):1318-32..
74. Hochster H, Liebes L, Wadler S, Oratz R, Wernz JC, Meyers M, Green M, Blum RH, Speyer JL. Pharmacokinetics of the cardioprotector ADR-529 (ICRF-187) in escalating doses combined with fixed-dose doxorubicin. *J Natl Cancer Inst.* 1992;84(22):1725-30.
75. Cardinale D, Colombo A, Sandri MT, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, Martinelli G, Veglia F, Fiorentini C, Cipolla CM. Prevention of high-dose chemotherapy-induced cardiotoxicity in high-risk patients by angiotensin-converting enzyme inhibition. *Circulation.* 2006;114(23):2474-81.
76. Kalay N, Basar E, Ozdogru I, Er O, Cetinkaya Y, Dogan A, Inanc T, Oguzhan A, Eryol NK, Topsakal R, Ergin A. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(11):2258-62.
77. Bosch X, Rovira M, Sitges M, Domènech A, Ortiz-Pérez JT, de Caralt TM, Morales-Ruiz M, Perea RJ, Monzó M, Esteve J. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (preventiOn of left Ventricular dysfunction with Enalapril and caRvedilol in patients submitted to intensive ChemOtherapy for the treatment of Malignant hEmopathies). *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(23):2355-62.
78. Kalam K, Marwick TH. Role of cardioprotective therapy for prevention of cardiotoxicity with chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2013;49(13):2900-9.
79. De Keulenaer GW, Doggen K, Lemmens K. The vulnerability of the heart as a pluricellular paracrine organ: lessons from unexpected triggers of heart failure in targeted ErbB2 anticancer therapy. *Circ Res.* 2010;106(1):35-46.
80. Ozcelik C, Erdmann B, Pilz B, Wettschureck N, Britsch S, Hübner N, Chien KR, Birchmeier C, Garratt AN. Conditional mutation of the ErbB2 (HER2) receptor in cardiomyocytes leads to dilated cardiomyopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(13):8880-5.
81. Crone SA, Zhao YY, Fan L, Gu Y, Minamisawa S, Liu Y, Peterson KL, Chen J, Kahn R, Condorelli G, Ross J Jr, Chien KR, Lee KF. ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy. *Nat Med.* 2002;8(5):459-65.
82. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med.* 2001;344(11):783-92.

83. Vejpongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(9):938-45.
84. Guarneri V, Lenihan DJ, Valero V, Durand JB, Broglio K, Hess KR, Michaud LB, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Esteva FJ. Long-term cardiac tolerability of trastuzumab in metastatic breast cancer: the M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol*. 2006;24(25):4107-15.
85. Ewer MS, Vooletich MT, Durand JB, Woods ML, Davis JR, Valero V, Lenihan DJ. Reversibility of trastuzumab-related cardiotoxicity: new insights based on clinical course and response to medical treatment. *J Clin Oncol*. 2005;23(31):7820-6.
86. Weiss RB. Mitoxantrone: its development and role in clinical practice. *Oncology (Williston Park)*. 1989;3(6):135-41.
87. Benjamin RS, Chawla SP, Ewer MS, Carrasco CH, Mackay B, Holmes F. Evaluation of mitoxantrone cardiac toxicity by nuclear angiography and endomyocardial biopsy: an update. *Invest New Drugs*. 1985;3(2):117-21.
88. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:364-78.
89. Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of cell division in *Escherichia Coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*. 1965;205:698-9.
90. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(8):573-84.
91. Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002;42(3):317-25.
92. Weiss RB, Christian MC. New cisplatin analogues in development. A review. *Drugs*. 1993 Sep;46(3):360-377.
93. Ho GY, Woodward N, Coward JI. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;102:37-46.
94. O'Dwyer PJ, Johnson SW. Current status of oxaliplatin in colorectal cancer. *Semin Oncol*. 2003;30(3 Suppl 6):78-87.
95. Jacobs SS, Fox E, Dennie C, Morgan LB, McCully CL, Balis FM. Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of intravenous oxaliplatin, cisplatin, and carboplatin in nonhuman primates. *Clin Cancer Res*. 2005;11(4):1669-74.
96. Goodsell DS. The molecular perspective: cisplatin. *Oncologist*. 2006;11(3):316-7.
97. Natarajan G, Malathi R, Holler E. Increased DNA-binding activity of cis-1,1-cyclobutanedicarboxylatodiammineplatinum(II) (carboplatin) in the presence of nucleophiles and human breast cancer MCF-7 cell cytoplasmic extracts: activation theory revisited. *Biochem Pharmacol*. 1999;58(10):1625-9.
98. Rozenzweig M, Canetta R, Carter SK. Carboplatin: the clinical evaluation strategy. *Cancer Treat Rev*. 1985;12 Suppl A:137-44.
99. Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol*. 1999;17(1):409-22.
100. Rodríguez-Fernández E, Manzano JL, Alonso A, Almendral MJ, Pérez-Andrés M, Orfao A, Criado JJ. Fluorescent cisplatin analogues and cytotoxic activity. *Curr Med Chem*. 2009;16(32):4314-27.
101. Sánchez-Paradinas S, Pérez-Andrés M, Almendral-Parra MJ, Rodríguez-Fernández E, Millán A, Palacio F, Orfao A, Criado JJ, Fuentes M. Enhanced cytotoxic activity of bile

- acid cisplatin derivatives by conjugation with gold nanoparticles. *J Inorg Biochem.* 2014;131:8-11.
102. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(1):48-58.
 103. Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(6):1176-1183.
 104. de Jongh FE, van Veen RN, Veltman SJ, de Wit R, van der Burg ME, van den Bent MJ, Planting AS, Graveland WJ, Stoter G, Verweij J. Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. *Br J Cancer.* 2003;88(8):1199-206.
 105. Al-Majed AA. Carnitine deficiency provokes cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007;100(3):145-50.
 106. Kart A, Cigremis Y, Karaman M, Ozen H. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Exp Toxicol Pathol.* 2010;62(1):45-52.
 107. Al-Majed AA, Sayed-Ahmed MM, Al-Yahya AA, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Al-Shabanah OA. Propionyl-L-carnitine prevents the progression of cisplatin-induced cardiomyopathy in a carnitine-depleted rat model. *Pharmacol Res.* 2006;53(3):278-86.
 108. Gerl A, Schierl R. Urinary excretion of platinum in chemotherapy-treated long-term survivors of testicular cancer. *Acta Oncol.* 2000;39(4):519-22.
 109. Oun R, Rowan E. Cisplatin induced arrhythmia; electrolyte imbalance or disturbance of the SA node? *Eur J Pharmacol.* 2017;811:125-128.
 110. Raja W, Mir MH, Dar I, Banday MA, Ahmad I. Cisplatin induced paroxysmal supraventricular tachycardia. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2013;34(4):330-2.
 111. Canobbio L, Fassio T, Gasparini G, Caruso G, Barzan L, Comoretto R, Brema F, Villani F. Cardiac arrhythmia: possible complication from treatment with cisplatin. *Tumori.* 1986;72(2):201-4.
 112. Fassio T, Canobbio L, Gasparini G, Villani F. Paroxysmal supraventricular tachycardia during treatment with cisplatin and etoposide combination. *Oncology.* 1986;43(4):219-20.
 113. Tassinari D, Sartori S, Drudi G, Panzini I, Gianni L, Pasquini E, Abbasciano V, Ravaioli A, Iorio D. Cardiac arrhythmias after cisplatin infusion: three case reports and a review of the literature. *Ann Oncol.* 1997;8(12):1263-7.
 114. Glaudemans B, Knoers NV, Hoenderop JG, Bindels RJ. New molecular players facilitating Mg(2+) reabsorption in the distal convoluted tubule. *Kidney Int.* 2010;77(1):17-22.
 115. Lajer H, Daugaard G. Cisplatin and hypomagnesemia. *Cancer Treat Rev.* 1999;25(1):47-58.
 116. Ma H, Jones KR, Guo R et al. Cisplatin compromises myocardial contractile function and mitochondrial ultrastructure: role of endoplasmic reticulum stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010; 460-5
 117. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-8
 118. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PI, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 26: 131-8

119. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenwald RA. CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Raton (FL, USA): CRC Press, 1985, pp. 177-80
120. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980;38: 161–70
121. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984;105:121-6
122. Beutler E. Superoxide dismutase. In: Beutler E, eds. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods*. Philadelphia, Grune & Stratton:PA; 1984, pp. 83-5
123. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood. Glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963;61:882–8
124. Ebaid H, Bashandy SAE, Alhazza IM, Hassan I, Al-Tamimi J. Efficacy of a Methanolic Extract of *Adansonia digitata* Leaf in Alleviating Hyperglycemia, Hyperlipidemia, and Oxidative Stress of Diabetic Rats. *Biomed Res Int*. 2019; 2019:2835152.
125. Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz. Textbook of Clinical Chemistry* third ed. WB Saunders; Philadelphia: 1999. pp. 1204–1264.
126. Brouwers B, Pruniau VP, Cauwelier EJ, et al. Phlorizin pretreatment reduces acute renal toxicity in a mouse model for diabetic nephropathy. *J Biol Chem*. 2013;288(38):27200–7.
127. Doumas B.T., Watson W.A., Biggs H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chim Acta*. 1971;31:87–96.
128. Tietz NW, *Fundamental of clinical chemistry*. 3rd ed. Carl AB, Edward RA (ed.). W. B. Saunders, Co, 1999.
129. Jahromi ZE, Divsalar E, Saboury A, Khaleghizadeh A, Mansouri-Torshizi S, Kostova I. Palladium complexes: New candidates for anti-cancer drugs. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 2016; 13(5): 967–989.
130. Wheate, N., Walker, S., Craig, G., Oun, R. The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. *Dalton Trans*. 2010; 39: 8113–8127.
131. Kelland, L. The Resurgence of Platinum-based Cancer Chemotherapy. 2007; 7: 573–584.
132. Jamieson, E., Lippard, S.J. Structure, recognition and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chem. Rev*. 1999; 99: 2467–2498.
133. Dasari, S., Tchounwou, P.B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol*. 2014; 11: 364–378.
134. Siddik, H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7265–7279.
135. Patane, S. Cardiotoxicity: cisplatin and long-term cancer survivors. *Int. J. Cardiol*. 2014; 175: 201-201.
136. El-Awady, S., Moustafa, M., Abo-Elmatty, M., Radwan, A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: mechanisms and cardioprotective strategies. *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 2011; 650, 335–341.
137. Gerl, A., Schierl, R. Urinary excretion of platinum in chemotherapy-treated long term survivors of testicular cancer. *Acta Oncol*. 2000; 39, 519–522.
138. Stojic IM, Jakovljevic VL, Zivkovic VI, Srejavic IM, Nikolic TR, Jeremic JN, Jeremic NS, Djuric DM, Radonjic KG, Labudovic-Borovic M, Bugarcic ZD, Bogojeski J, Novokmet SS. The perfusion of cisplatin and cisplatin structural analogues through the isolated rat

- heart: The effects on coronary flow and cardiodynamic parameters. *Gen Physiol Biophys*. 2018 Sep;37(5):515-525.
139. Stojic IM, Zivkovic VI, Srejavic IM, Nikolic TR, Jeremic NS, Jeremic JN, Djuric DM, Jovicic N, Radonjic KG, Bugarcic ZD, Jakovljevic VLJ, Novokmet SS. Cisplatin and cisplatin analogues perfusion through isolated rat heart: the effects of acute application on oxidative stress biomarkers. *Mol Cell Biochem*. 2018 Feb;439(1-2):19-33.
 140. Alhadeff AL, Holland RA, Zheng H, Rinaman L, Grill HJ, De Jonghe BC. Excitatory Hindbrain-Forebrain Communication Is Required for Cisplatin-Induced Anorexia and Weight Loss. *J Neurosci*. 2017 Jan 11;37(2):362-370. doi:
 141. Smigic J, Sabo T, Vranic A, Zivkovic V, Srejavic I, Turnic TN, Milosavljevic I, Poljarevic J, Krivokapic M, Bolevich S, Jakovljevic VL. Chronic effects of platinum(IV) complex and its diamine ligand on rat heart function: comparison with cisplatin. *Mol Cell Biochem*. 2019 Apr 15. doi: 10.1007/s11010-019-03533-8.
 142. Lin MT, Ko JL, Liu TC, Chao PT, Ou CC. Protective Effect of Methionine on Body Weight Loss, Anorexia, and Nephrotoxicity in Cisplatin-Induced Chronic Toxicity in Rats. *Integr Cancer Ther*. 2018 Sep;17(3):813-824.
 143. Cabezas PA, Vera G, Castillo M, Fernández-Pujol R, Martín MI, Abalo R. Radiological study of gastrointestinal motor activity after acute cisplatin in the rat. Temporal relationship with pica. *Auton Neurosci*. 2008;141:54-65.
 144. Gong Y, Liu Y, Liu F, et al. Ghrelin fibers from lateral hypothalamus project to nucleus tractus solitaries and are involved in gastric motility regulation in cisplatin-treated rats. *Brain Res*. 2017;1659:29-40.
 145. Takeda H, Sadakane C, Hattori T, et al. Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT₂ receptor antagonism. *Gastroenterology*. 2008;134:2004-2013.
 146. Vera G, Chiarlone A, Martín MI, Abalo R. Altered feeding behaviour induced by long-term cisplatin in rats. *Auton Neurosci*. 2006;126-127:81-92.
 147. Garcia JM, Scherer T, Chen JA, et al. Inhibition of cisplatin-induced lipid catabolism and weight loss by ghrelin in male mice. *Endocrinology*. 2013;154(9):3118–3129. doi:10.1210/en.2013-1179.
 148. Abdel-Gayoum AA, El-Jenjan KB, Ghwarsha KA. Hyperlipidaemia in cisplatin-induced nephrotic rats. *Hum Exp Toxicol*. 1999 Jul;18(7):454-9.
 149. Aberare OL, Okuonghae P, Mukoro N, et al. Triglycerides, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in rats exposed to premium motor spirit fumes. *N Am J Med Sci*. 2011;3(6):277–280.
 150. Boehm O, Zur B, Koch A, Tran N, Freyenhagen R, Hartmann M, Zacharowski K. Clinical chemistry reference database for Wistar rats and C57/BL6 mice. *Biol Chem*. 2007 May;388(5):547-54.
 151. Bakir S, Yazgan ÜC, İbiloğlu İ, Elbey B, Kızıl M, Kelle M. The protective effect of pomegranate extract against cisplatin toxicity in rat liver and kidney tissue. *Arch Physiol Biochem*. 2015;121(4):152-6.
 152. Katanić J, Matić S, Pferschy-Wenzig EM, Kretschmer N, Boroja T, Mihailović V, Stanković V, Stanković N, Mladenović M, Stanić S, Mihailović M, Bauer R. Filipendula ulmaria extracts attenuate cisplatin-induced liver and kidney oxidative stress in rats: In vivo investigation and LC-MS analysis. *Food Chem Toxicol*. 2017 Jan;99:86-102.

153. Fulco BCW, Jung JTK, Chagas PM, Quines CB, Nogueira CW, Zeni GR. Pattern differences between newborn and adult rats in cisplatin-induced hepatorenal toxicity. *Chem Biol Interact.* 2018 Oct 1;294:65-73.
154. Bishr A, Sallam N, Nour El-Din M, Awad AS, Kenawy SA. Ambroxol attenuates cisplatin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via inhibition of p-JNK/p-ERK. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019 Jan;97(1):55-64.
155. Misic MM, Jakovljevic VL, Bugarcic ZD, Zivkovic VI, Srejovic IM, Barudzic NS, Djuric DM, Novokmet SS. Platinum Complexes-Induced Cardiotoxicity of Isolated, Perfused Rat Heart: Comparison of Pt(II) and Pt(IV) Analogues Versus Cisplatin. *Cardiovasc Toxicol.* 2015 Jul;15(3):261-8.
156. Rosic G, Srejovic I, Zivkovic V, Selakovic D, Joksimovic J, Jakovljevic V. The effects of N-acetylcysteine on cisplatin-induced cardiotoxicity on isolated rat hearts after short-term global ischemia. *Toxicol Rep.* 2015;2:996–1006.
157. Pai VB, Nahata MC. Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents: incidence, treatment and prevention. *Drug Saf.* 2000; 22:263–302.
158. Al-Majed AA, Sayed-Ahmed MM, Al-Yahya AA, Aleisa MA, Al-Rejaie SS, Al-Shabanah OA. Propionyl-L-Carnitine prevents the progression of cisplatin-induced cardiotoxicity in a carnitine-depleted rat model. *Pharmacol Res.* 2006; 53:278–286.
159. Raja W, Mir MH, Dar I, Banday MA, Ahmad I. cisplatin induced paroxysmal supraventricular tachycardia. *Indian J Med Paediatr Oncol.* 2013; 34:330–2.
160. Guglin M, Aljayeh M, Saiyad S, Ali R, Curtis AB. Introducing a new entity: chemotherapy-induced arrhythmia. *Europace.* 2009; 11:1579–1586.
161. Ozcan T, Cirit A, Kiykim A. Recurrent complete atrioventricular block during cisplatin infusion: a case report. *J Clin Exp Cardiol.* 2011; 2:151.
162. Khan S, Chen CL, Brady MS, et al. Unstable angina associated with cisplatin and carboplatin in a patient with advanced melanoma. *J Clin Oncol.* 2012; 30:e163–4.
163. Bano N, Najam R, Qazi F. Adverse cardiac manifestations of cisplatin- a review. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2013; 18:80–85.
164. Moore RA, Adel N, Riedel E, et al. High incidence of thromboembolic events in patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a large retrospective analysis. *J Clin Oncol.* 2011; 29:3466–3473.
165. Ryberg M. Recent advances in cardiotoxicity of anticancer therapies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2012; 32:555–559.
166. Dolci A, Dominici R, Cardinale D, Sandri MT, Panteghini M. Biochemical markers for prediction of chemotherapy-based cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use. *Am J Clin Pathol.* 2008; 130:688–695.
167. Amit L, Ben-Aharon I, Tichler T, Inbar E, Sulkes A, Stemmer S. Cisplatin-induced posterior reversible encephalopathy syndrome – a brief report and review of the literature. *J Behav Brain Sci.* 2012; 2:97–101.
168. Kolb R, Ghazi M, Barfuss D. Inhibition of basolateral transport and cellular accumulation of cDDP and N-acetyl-L-cysteine-cDDP by TEA and PAH in the renal proximal tubule. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2003; 51:132–138.
169. Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, et al. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via human organ cation transporter 2. *Am J Pathol.* 2005; 167:1477–84.

170. Grube M, Ameling S, Noutsias M, et al. Selective regulation of cardiac organic cation transporter novel type 2 (OCTN2) in dilated cardiomyopathy. *Am J Pathol.* 2011; 178:2547–59.
171. Pabla N, Murphy RF, Liu K, Dong Z. The copper transporter Ctrl contributes to cisplatin uptake by renal tubular cells during cisplatin-induced nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009; 296:F505–F511.
172. Kim BE, Turski ML, Nose Y, Casad M, Rockman HA, Thiele DJ. Cardiac copper deficiency activates a systemic signaling mechanism that communicates with the copper acquisition and storage organs. *Cell Metab.* 2010; 11:353–363.
173. Townsend DM, Tew KD, Lin H, King JB, Hanigan MH. Role of glutathione-S-transferase Pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biomed & Pharmacother.* 2009; 63:79–85.
174. Paolicchi A, Sotiropoulou M, Perego P, et al. γ -Glutamyl transpeptidase catalyses the extracellular detoxification of cisplatin in a human cell line derived from the proximal convoluted tubule of the kidney. *Eur J Cancer.* 2002; 39:996–1003.
175. Nishikawa M, Nagatomi H, Chang BJ, Sato E, Inoue M. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells inhibits mitochondrial injury and renal dysfunction induced by cisplatin. *Arch Biochem Biophys.* 2001; 387:78–84.
176. Dzagnidze A, Katsarava Z, Makhalova J, Liedert B, et al. Repair capacity for platinum-DNA adducts determines the severity of cisplatin-induced peripheral neuropathy. *J Neuro.* 2007; 27:9451–9457.
177. Deng J, Kohda Y, Chiao H, et al. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-acute renal injury. *Kid Int.* 2001; 60:2118–2128.
178. El-Awady, el-SE., Moustafa, YM., Abo-Elmatty, DM., Radwan, A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: mechanisms and cardioprotective strategies. *Eur J Pharmacol.* 2011; 650:335–41.
179. Cullen KJ, Yang Z, Schumaker L, Guo Z. Mitochondria as a critical target of the therapeutic agent cisplatin in head and neck cancer. *J Bioenerg Biomembr.* 2007; 39:43–50.
180. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2005; 4:307320.
181. Goren MP. Cisplatin nephrotoxicity affects magnesium and calcium metabolism. *Med Ped Oncol.* 2003; 41:186–189.
182. Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Nielsen S, et al. Magnesium depletion enhances cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2005; 56:535–542.
183. Ali BH, Al-Moundhri M, Tageldin M, et al. Ontogenic aspects of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46:3355–3359.
184. Chang BJ, Nishikawa M, Sato E, Utsumi K, Inoue M. l-Carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch Biochem Biophys.* 2002; 405:55–64.
185. Portilla D, Dai G, McClure T, Bates L, et al. Alterations of PPARalpha and its coactivator PGC-1 in cisplatin-induced acute renal failure. *Kidney Int.* 2002; 62:1208–19.
186. Khan SA, McLean MK. Toxicology of frequently encountered nonsteroid anti-inflammatory drugs in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2012; 42:289–306.
187. Ramesh G, Reeves WB. TNF- α mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest.* 2002; 110:835–842.
188. Ramesh G, Kimball SR, Jefferson LS, Reeves WB. Endotoxin and cisplatin synergistically stimulate TNF- α production by renal epithelial cells. *Am J Physiol.* 2007; 292:812–819.

189. Jiang M, Wang CY, Huang S, Yang T, Dong Z. Cisplatin-induced apoptosis in p53-deficient renal cells via the intrinsic mitochondrial pathway. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009:F983–F993.
190. Lee RH, Song JM, Park MY, et al. Cisplatin-induced apoptosis by translocation of endogenous Bax in mouse collecting duct cells. *Biochem Pharmacol*. 2001; 62:1013–1023.
191. Yin X, Apostolov EO, Shah SV, et al. Induction of renal endonuclease G by cisplatin is reduced in DNase I-deficient mice. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18:2544–2553.
192. Wozniak K, Czechowska A, Blasiak J. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitors STI571. *Chem Biol Interact*. 2004; 147:309–318.
193. Karthikeyan K, Saralabai-Bai BR, Niranjali-Devaraj S. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Int J Cardiol*. 2007; 115:326–333.
194. Demkow, U., Bialas-Chromiec, B., Stelmaszczyk-Emmel, et al. The cardiac markers and oxidative stress parameters in advanced non-small cell lung cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *eJIFCC*. 2011. www.ifcc.org/media/58796/ejifcc_v22_01_02.pdf
195. Mattson DM, Ahmad IM, Dayal D, et al. Cisplatin combined with zidovudine enhances cytotoxicity and oxidative stress in human head and neck cancer cells via a thiol-dependent mechanism. *Free Radic Biol Med*. 2009; 46:232–237.
196. Nakhaee A, Bokaeian M, Noori S, Mahboob T. Antioxidant effect of carnosine pretreatment on cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *Indian J Clin Biochem*. 2010; 25:86–91.
197. Antunes LMG, Darin JDC, Bianchi MLP. Protective effects of Vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res*. 2000; 41:405–411.
198. Chirino YI, Sanchez-Gonzalez DJ, Martinez-Martinez CM, Cruz C, Pedraza-Chaverri J. Protective effects of apocynin against cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity. *Toxicology*. 2008; 245:18–23.
199. Kadikoylu G, Bolaman Z, Demir S, Balkaya M, Akalin N, Enli Y. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lip peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. *Hum Exp Toxicol*. 2004; 23:29–34.
200. Kruidering M, Van de Water B, de Heer E, et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I to IV of the respiratory chain. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997; 280:638–649.
201. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12:2683–2690.
202. Soliman F, anees LM, Ibrahim DM. Cardioprotective effect of zingerone against oxidative stress, inflammation, and apoptosis induced by cisplatin or gamma radiation in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2018; 391(8): 819-832.
203. Zhang P, Yi LH, Meng GY, Zhang HY, Sun HH, Cui LQ. Appelin-13 attenuates cisplatin-induced cardiotoxicity through inhibition of ROS-mediated DNA damage and regulation of MARKs and AKT pathways. *Free Radic Res* 2017; 51(5): 449-459.
204. Sudheesh NP, Ajith TA, Janardhanan KK, Krishnan CV. Palladium alpha-lopolic acid complex formulation enhances activities of Krebs cycle dehydrogenases and respiratory complexes I-IV in the heart of aged rats. *Food Chem Toxicol* 2009;47:2124-2128.

205. Ndagi U, Mhlongo N, Soliman ME. Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. *Drug Design, Development and Therapy* 2017;11 599–616.
206. Yuce A, Atessahin A, Ceribasi AO, Aksakal M. Ellagic acid prevents cisplatin-induced oxidative stress in liver and heart tissues of rats. *Bas Clin Pharm Toxicol* 2007;101(5):345-349.
207. Bussari AA, Adejare AA, Shodipe AF, Oduniyi OA et al. Protective but non-synergistic effects of *Nigella Sativa* and vitamin E against cisplatin-induced renal toxicity and oxidative stress in Wistar rats. *Drug Res (Stuttg)*. 2018;68(12):696-703.
208. Ewees MG, Messiha BAS, Abdel-Bakky MS et al. Tempol, a superoxide dismutase mimetic agent, reduces cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug Chem Toxicol*. 2018;1:1-8.
209. Bünger J, Stork J, Stalder K. Cyto- and genotoxic effects of coordination complexes of platinum, palladium and rhodium in vitro. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1996;69:33-38.
210. Christensen GM. Effects of metal cations and other chemicals upon the in vitro activity of two enzymes in the blood plasma of the white sucker, *Catostomus commersoni* (Lacépède). *Chem-Biol. Interact.*, 1971/72, 4, 351-361.
211. Higgins JD, Neely L, Fricker S. Synthesis and cytotoxicity of some cyclometallated palladium complexes. *J. Inorg. Biochem* 1993;49:149-156.
212. Peric T, Jakovljevic VLj, Zivkovic V, Krkeljic J, Petrovic ZD, Simijonovic D, Novokmet S, Djuric DM, Jankovic SM. Toxic Effects of Palladium Compounds on the Isolated Rat Heart. *Med Chem* 2012;8(1):9-13.
213. Sudheesh NP, Ajith TA, Janardhanan KK, Krishnan CV. Effect of POLY-MVA, a palladium α -lipoic acid complex formulation against declined mitochondrial antioxidant status in the myocardium of aged rats. *Food Chem. Toxicol* 2010;4:1858-1862.
214. Sudheesh NP, Ajith TA, Janardhanan KK, Krishnan CV. Palladium α -lipoic acid complex attenuates alloxan-induced hyperglycemia and enhances the declined blood antioxidant status in diabetic rats. *J Diabetes* 2011;3(4):293-300.