

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

НАЗИВ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ПРИМ.		15. 04. 2025.	
Орг. јед.		Вредност	
05	2549		

ОЦЕНА МЕНТОРА О ИЗВЕШТАЈУ О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ ОДНОСНО ДОКТОРСКОГ УМЕТНИЧКОГ ПРОЈЕКТА

НАЗИВ ДИСЕРТАЦИЈЕ	Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глюкагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом		
Кандидат	Марко Равић		
Ментор:	Проф. др Иван Срејовић		
Датум пријема потпуног извештаја о провери оригиналности докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта	15.04.2025.		

Докторска дисертација кандидата Марка Равића је оригинални рад докторанта и бави се испитивањем ефеката агониста рецептора за пептид сличан глюкагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом. У самом раду поштована су сва академска правила цитирања и навођења извора на које се кандидат позивао током писања докторске дисертације и образлагања добијених резултата. У извештају о плагијаризму укупан степен сличности износи 10%, при чему највећи степен преклапања са појединачним извором износи 2%. Делови текста који су препознати као слични са другим изворима односе се на делове материјала и метода, и објашњење статистичке значајности. Делови текста који се подударају са другим изворима су углавном фразе, као и референце на које се кандидат позвао, а које се уобичајено цитирају у радовима и докторатима који се баве оксидационим стресом.

Докторска дисертација кандидата Марка Равића под називом „Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глюкагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом“ је оригинални рад докторанта те се прописани поступак припреме за одбрану може наставити (позитивна оцена).

Датум

15.04.2025.

ПОТПИС МЕНТОРА



Проф. др Иван Срејовић

Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на исхемијско/ реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом

By Марко Равић



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Марко П. Равић

**Ефекти агониста рецептора за пептид сличан
глукагону-1 на исхемијско/реперфузиону
повреду изолованог срца пацова са
метаболичким синдромом**

докторска дисертација

Крагујевац, 2025. године



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Marko P. Ravić

**Efekti agonista receptora za peptid sličan
glukagonu-1 na ishemijsko/reperfuzionu povredu
izolovanog srca pacova sa metaboličkim
sindromom**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2025. godine



UNIVERSITY OF KRAGUJEVC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Marko P. Ravić

**Effects of glucagon-like peptide-⁵1 receptor
agonists on ischemia/reperfusion injury in
isolated hearts of rats with metabolic syndrome**

doctoral dissertation

Kragujevac, 2025

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Аутор
Име и презиме: Марко Равић
Датум и место рођења: 02.10.1990. Крагујевац, Србија
Садашње запослење: асистент за ужу научну област Клиничка фармација, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Докторска дисертација
Наслов: Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом
Број страница: 101
Број слика: 9 слика, 25 графика и 1 табела
Број библиографских података: 218
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, Центар за претклиничка и функционална истраживања
Научна област (УДК): Медицинске науке
Ментор: Проф. др Иван Срејовић, ванредни професор за ужу научну област Физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Број и датум одлуке Већа универзитета о прихватању теме докторске дисертације: IV-03-9/14, 22.01.2020.

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

Autor
Ime i prezime: Marko Ravić
Datum i mesto rođenja: 02.10.1990. Kragujevac, Srbija
Sadašnje zaposlenje: asistent za užu naučnu oblast Klinička farmacija, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Doktorska disertacija
Naslov: Efekti agonista receptora za peptid sličan glukagonu-1 na ishemijsko/reperfuzionu povredu izolovanog srca pacova sa metaboličkim sindromom
Broj stranica: 101
Broj slika: 9 slika, 25 grafika i 1 tabela
Broj bibliografskih podataka: 218
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, Centar za preklinička i funkcionalna istraživanja
Naučna oblast (UDK): Medicinske nauke
Mentor: Prof. dr Ivan Srejović, vanredni profesor za užu naučnu oblast Fiziologija Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu
Broj i datum odluke Veća univerziteta o prihvatanju teme doktorske disertacije: IV-03-9/14, 22.01.2020.

IDENTIFICATION PAGE OF DOCTORAL DISSERTATION

Author
Name and surname: Marko Ravić
Date and place of birth: 02.10.1990. Kragujevac, Serbia
Current employment: assistant for the narrower scientific field of Clinical Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on ischemia/reperfusion injury in isolated hearts of rats with metabolic syndrome
No. of pages: 101
No. of images: 9 images, 25 graphs and 1 table
No. of bibliographic data: 218
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Center for Preclinical and Functional Research
Scientific area (UDK): Medical sciences
Mentor: Prof. Dr. Ivan Srejšović, Associate Professor for the narrower scientific field of physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-9/14, 22.01.2020.

САЖЕТАК

Метаболички синдром је скуп међусобно повезаних поремећаја који обухватају хипертензију, дислипидемију, хипергликемију, инсулинску резистенцију и гојазност. Упркос бројним доступним лековима, савремени водичи издвајају агонисте рецептора за пептид сличан глукAGONУ 1 (*glucagon like peptid*, GLP-1) као камен темељац у терапији пацијенА са метаболичким синдромом.

Главни циљ овог истраживања био је да се испитају ефекти примене агониста GLP-1 рецептора (лираглутид, ексенатид, дулаглутид и семаглутид) на исхемијско реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом.

У истраживање је укључено 50 мужјака пацова *Wistar albino* соја које су након потврде индукције метаболичког синдрома разврстани у 5 група у зависности од примењеног лека. Након 6. недеље од почетка експерименталног протокола, функција срца испитана је *in vivo* применом ултразвука. Непосредно након жртвовања, декапитацијом, узети су узорци крви како би се одредиле вредности триглицерида, холестерола, гликемије, инсулина, као и параметри оксидативног стреса: индекс липидне пероксидације - TBARS, нитрити, супер оксид анјон радикал, водоник пероксид, каталаза, супероксид дисмутаза, глутатион. Функција срца *ex vivo* испитана је употребом Лангендорфове технике изолованог срца сисара. Такође је спроведена и хистоморфолошка анализа срца, јетре, бубрега и панкреаса.

Резултати су показали да агонисти GLP-1 рецептора имају значајне кардиопротективне особине, пошто су побољшали опоравак и функционалне перформансе миокарда. Истовремено, лекови су ублажили кључне метаболичке поремећаје (хипергликемија, дислипидемија и хипертензија). Наведени ефекти су последица сложеног деловања, који укључује антиоксидациона, антиинфламацијска и антиапоптотска својства.

Резултати истраживања указују на корисност примене агониста GLP-1 рецептора код оболелих од метаболичког синдрома и циљу превенције и ублажавања исхемијске болести срца.

Кључне речи: пептид сличан глукAGONУ 1, агонисти GLP-1 рецептора, метаболички синдром, исхемијско реперфузиона повреда, редокс статус

SAŽETAK

Metabolički sindrom je skup međusobno povezanih poremećaja koji obuhvataju hipertenziju, dislipidemiju, hiperglikemiju, insulinsku rezistenciju i gojaznost. Uprkos brojnim dostupnim lekovima, savremeni vodiči izdvajaju agoniste receptora za peptid sličan glukagonu 1 (glucagon like peptid, GLP-1) kao kamen temeljac u terapiji pacijenata sa metaboličkim sindromom.

Glavni cilj ovog istraživanja bio je da se ispituju efekti primene agonista GLP-1 receptora (liraglutid, eksenatid, dulaglutid i semaglutid) na ishemijsko reperfuzionu povredu izolovanog srca pacova sa metaboličkim sindromom.

U istraživanje je uključeno 50 mužjaka pacova Wistar albino soja koje su nakon potvrde indukcije metaboličkog sindroma razvrstani u 5 grupa u zavisnosti od primenjenog leka. Nakon 6. nedelje od početka eksperimentalnog protokola, funkcija srca ispitana je in vivo primenom ultrazvuka. Neposredno nakon žrtvovanja, dekapitacijom, uzeti su uzorci krvi kako bi se odredile vrednosti triglicerida, holesterola, glikemije, insulina, kao i parametri oksidativnog stresa: indeks lipidne peroksidacije - TBARS, nitriti, super oksid anjon radikal, vodonik peroksid, katalaza, superoksid dismutaza, glutation. Funkcija srca ex vivo ispitana je upotrebom Langendorfove tehnike izolovanog srca sisara. Takođe je sprovedena i histomorfološka analiza srca, jetre, bubrega i pankreasa.

Rezultati su pokazali da agonisti GLP-1 receptora imaju značajne kardioprotektivne osobine, pošto su poboljšali oporavak i funkcionalne performanse miokarda. Istovremeno, lekovi su ublažili ključne metaboličke poremećaje (hiperglikemija, dislipidemija i hipertenzija). Navedeni efekti su posledica složenog delovanja, koji uključuje antioksidaciona, antiinflamacijska i antiapoptotska svojstva.

Rezultati istraživanja ukazuju na korisnost primene agonista GLP-1 receptora kod obolelih od metaboličkog sindroma i cilju prevencije i ublažavanja ishemijske bolesti srca.

Ključne reči: peptid sličan glukagonu 1, agonisti GLP-1 receptora, metabolički sindrom, ishemijsko reperfuzionu povreda, redoks status

ABSTRACT

Metabolic syndrome is a set of interrelated disorders that include hypertension, dyslipidemia, hyperglycemia, insulin resistance, and obesity. Despite the numerous drugs available, modern guidelines highlight glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists as the cornerstone in the treatment of patients with metabolic syndrome.

The main goal of this study was to examine the effects of the administration of GLP-1 receptor agonists (liraglutide, exenatide, dulaglutide and semaglutide) on ischemia-reperfusion injury in the isolated heart of rats with metabolic syndrome.

50 male Wistar albino rats were included in the research, and after confirmation of the induction of metabolic syndrome, they were classified into 5 groups depending on the drug administered. After the 6th week from the beginning of the experimental protocol, the function of the heart was examined in vivo using ultrasound. Immediately after sacrifice, by decapitation, blood samples were taken to determine the values of triglycerides, cholesterol, glycemia, insulin, as well as parameters of oxidative stress: lipid peroxidation index - TBARS, nitrites, super oxide anion radical, hydrogen peroxide, catalase, superoxide dismutase, glutathione. Ex vivo cardiac function was examined using the Langendorff technique of the isolated mammalian heart. A histomorphological analysis of the heart, liver, kidneys and pancreas was also performed.

The results showed that GLP-1 receptor agonists have significant cardioprotective properties, since they improved the recovery and functional performance of the myocardium. At the same time, the drugs alleviated key metabolic disorders (hyperglycemia, dyslipidemia, and hypertension). The mentioned effects are the result of a complex action, which includes antioxidant, anti-inflammatory and antiapoptotic properties.

The results of the research indicate the usefulness of GLP-1 receptor agonists administration in patients with metabolic syndrome for the purpose of preventing and mitigating ischemic heart disease.

Key words: glucagon-like peptide 1, GLP-1 receptor agonists, metabolic syndrome, ischemia reperfusion injury, redox status

Садржај

<u>1. УВОД</u>	<u>1</u>
1.1 ИСХЕМИЈСКА БОЛЕСТ СРЦА	1
1.1.1 ИСХЕМИЈСКО РЕПЕРФУЗИОНА ПОВРЕДА	4
1.1.1.1 Механизми настанка реперфузионе повреде	5
1.2 МЕТАБОЛИЧКИ СИНДРОМ	6
1.2.1 МЕХАНИЗМИ НАСТАНКА МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА	8
1.2.2 ТЕРАПИЈА МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА	9
1.3 ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1	9
1.3.1 ОТКРИЋЕ GLP-1	10
1.3.2 УЛОГА И МЕХАНИЗАМ ДЕЛОВАЊА GLP-1 У ОРГАНИЗМУ	11
1.3.3 АГОНИСТИ РЕЦЕПТОРА ЗА GLP-1	12
1.3.3.1 Ексенатид	12
1.3.3.2 Лираглутид	12
1.3.3.3 Дулаглутид	13
1.3.3.4 Семаглутид	14
1.3.4 АНТИОКСИДАЦИОНИ ПОТЕНЦИЈАЛ GLP-1 АГОНИСТА	16
<u>2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ</u>	<u>19</u>
2.1 ОПШТИ ЦИЉ	19
2.2 СПЕЦИФИЧНИ ЦИЉЕВИ	19
2.3 ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ	19
<u>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ</u>	<u>22</u>
3.1 ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ	22
3.2 ИНДУКЦИЈА МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ	22
3.2.1 СТРЕПТОЗОТОЦИН	22
3.2.2 УСПОСТАВЉАЊЕ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОГ МОДЕЛА МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА КОД ПАЦОВА	23
3.3 ХРОНИЧНА ПРИМЕНА GLP-1 АГОНИСТА: ИСПИТИВАЊЕ ВАРИЈАБЛЕ	23
3.3.1 ПРАЋЕЊЕ ВРЕДНОСТ ТЕЛЕСНЕ МАСЕ, ГЛУКОЗЕ И ИНСУЛИНА У КРВИ ПАЦОВА	24
3.3.2 ОДРЕЂИВАЊЕ ВРЕДНОСТИ КРВНОГ ПРИТИСКА И СРЧАНЕ ФРЕКВЕНЦЕ	24
3.3.3 ПРАЋЕЊЕ IN VIVO ФУНКЦИЈЕ СРЦА: ЕХОКАРДИОГРАФИЈА	24

3.4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОТОКОЛ ИСХЕМИЈЕ И РЕПЕРФУЗИЈЕ СРЦА ПО ЛАНГЕНДОРФУ	25
3.5 ОДРЕЂИВАЊЕ ПАРАМЕТАРА РЕДОКС СТАТУСА	28
3.5.1 ОДРЕЂИВАЊЕ ИНДЕКСА ЛИПИДНЕ ПЕРОКСИДАЦИЈЕ (TBARS)	28
3.5.2 ОДРЕЂИВАЊЕ НИТРИТА (NO ₂ -)	28
3.5.3 ОДРЕЂИВАЊЕ СУПЕРОКСИД АНИОН РАДИКАЛА (O ₂ -)	29
3.5.4 ОДРЕЂИВАЊЕ ВОДНИК ПЕРОКСИДА (H ₂ O ₂)	29
3.5.5 ОДРЕЂИВАЊЕ СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗЕ (SOD)	30
3.5.6 ОДРЕЂИВАЊЕ РЕДУКОВАНОГ ГЛУТАТИОНА (GSH)	30
3.5.7 ОДРЕЂИВАЊЕ КАТАЛАЗЕ (CAT)	30
3.6 БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ ЛИПИДНОГ СТАТУСА	31
3.7 ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА	31
3.7.1 ХЕМАТОКСИЛИН/ЕОЗИН БОЈЕЊЕ	31
3.7.2 PICROSIRIUS RED БОЈЕЊЕ	31
3.8 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА	32
 4. РЕЗУЛТАТИ	 34
 4.1 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ТЕЛЕСНУ ТЕЖИНУ И ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ ТЕЖИНЕ	 34
4.2 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ГЛИКЕМИЈУ	36
4.3 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ТЕСТ ОПТЕРЕЂЕЊА ГЛУКОЗОМ	37
4.4 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ЛИПИДНИ СТАТУС	39
4.5 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ПАРАМЕТРЕ СИСТЕМСКОГ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА	39
4.6 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ХЕМОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ	41
4.6.1 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА КРВНИ ПРИТИСАК ПАЦОВА	41
4.6.2 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА IN VIVO ХЕМОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ СРЦА	42
4.7 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ	43

4.7.1 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на максималну стопу промене притиска у левој комори (DP/DT MAX)	44
4.7.2 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на минималну стопу промене притиска у левој комори (DP/DT MIN)	46
4.7.3 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на систолни притисак у левој комори (SLVP)	47
4.7.4 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на дијастолни притисак у левој комори (DLVP)	48
4.7.5 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на срчану фреквенцу (HR)	49
4.7.6 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на коронарни проток (CF)	50
4.8 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на прооксидационе параметре мерење у коронарном венском ефлуенту	51
4.8.1 Испитивање ефеката примене на индекс липидне пероксидације (TBARS)	52
4.8.2 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на нитрите (NO ₂ ⁻)	53
4.8.3 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на супероксид анион радикал (O ₂ ⁻)	55
4.8.4 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на водоник пероксид (H ₂ O ₂)	56
4.9 Морфометријске и морфолошке анализе органа	57
4.9.1 Морфометријска и морфолошка анализа срца и аорте	57
4.9.1.1 Површина попречног пресека кардиомиоцита	57
4.9.1.2 Садржај колагених влакана у срцу	58
4.9.1.3 Дебљина зида аорте	59
4.9.1.4 Морфолошка анализа срца	61
4.9.2 Морфолошка анализа јетре	62
4.9.3 Морфолошка анализа бубрега	63
4.9.4 Морфолошка анализа панкреаса	64

5. ДИСКУСИЈА **67**

5.1 ЕФЕКТИ АГЕНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ТЕЛЕСНУ ТЕЖИНУ И ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ ТЕЖИНЕ **67**

5.2 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ВРЕДНОСТИ ГЛИКЕМИЈЕ И ИНСУЛИНА	68
5.3 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ЛИПИДНИ СТАТУС	69
5.4 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА СИСТЕМСКИ ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС	70
5.5 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА КРВНИ ПРИТИСАК	71
5.6 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА <i>IN VIVO</i> ФУНКЦИЈУ (ЕХОКАРДИОГРАФСКЕ ПАРАМЕТРЕ) СРЦА	73
5.7 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ СРЦА	73
5.8 ЕФЕКТИ ПРИМЕНЕ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ВРЕДНОСТИ БИОМАРКЕРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ	75
5.9 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ХИСТОМОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ	76
<u>6. ЗАКЉУЧЦИ</u>	<u>80</u>
<u>7. РЕФЕРЕНЦЕ</u>	<u>83</u>

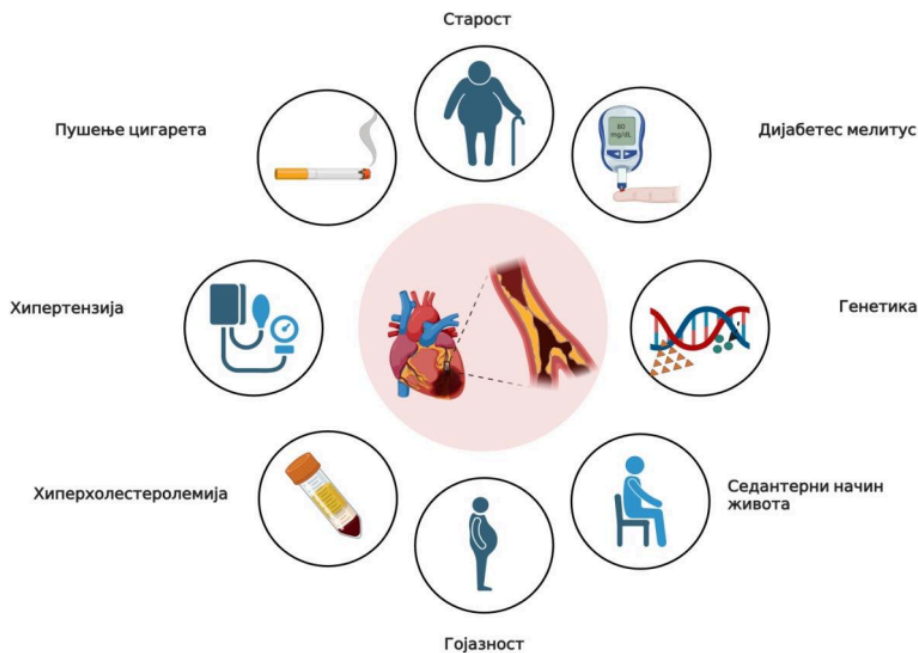
I

УВОД

1. УВОД

1.1 ИСХЕМИЈСКА БОЛЕСТ СРЦА

Исхемијска болест срца (ИБС) представља значајан здравствени проблем како у нашој земљи, тако и широм света. Податак који иде у прилог наведеној чињеници је да су кардиоваскуларне болести (КВБ) узрок 1/3 смрти у целом свету, међу којима је најраспрострањенија управо исхемијска болест срца (1). Према подацима Светске здравствене организације (СЗО), КВБ су узрок више од 17,9 милиона смртних случајева годишње, што представља око 31% укупне смртности у светској популацији. Упркос постојећим терапијским опцијама, али и напорима научника у откривању нових могућности лечења, очекује се да ће инциденција ИБС стално бити у порасту, поготово у земљама источне Европе. Један од разлога је и старење популације, односно повећање броја становништва старијег од 65 година за које Уједињене нације процењују да ће се повећати са 1 на 11 становника, на 1 на 6 становника до 2050. године (2). Такође, урбанизација и модерни животни стил доприносе већем броју оболелих од ИБС, јер укључују факторе као што су нездрава исхрана и смањена физичка активност који доводе по пораста преваленције гојазности, једног од фактора ризика за КВБ. На Слици 1 приказани су фактори ризика за настанак КВБ.



Слика 1. Фактори ризика за настанак кардиоваскуларних болести

Сложена патофизиолошка основа ИБС и велики број фактора који међусобно интерагују чини напретке у превенцији и лечењу недовољним за редукцију морталитета и морбидитета. Патоанатомски супстрат настанка исхемије миокарда је опструкција протока крви кроз коронарну артерију најчешће услед настанка тромба на терену атеросклеротског плака (2). Атеросклероза је прогресивно стање које карактерише постепено накупљање плакова унутар зидова артерија. Ова болест се најчешће развија током више година, а неке од патоанатомских претпоставки указују на могућност да почиње у детињству. Фактори ризика за настанак атеросклерозе, а самим тим и за настанак ИМ, су хиперхолестеролемија, дислипидемија, хиперхомоцистеинемија, хипертензија, шећерна болест, гојазност, генетска предиспозиција и конзумирање дувана. Атеросклеротски плакови се састоје од липида, холестерола, ћелијских отпадних производа, калцијума и фибрина, а како се развијају, временом могу постати нестабилни и склони пуцању (2). Влакнаста капица плака може временом ослабити, нарочито под утицајем инфламацијских процеса унутар самог плака. Инфламацијске ћелије, посебно макрофаги, ослобађају ензиме који разлажу структурне протеине капице плака чинећи је подложнијом пуцању. Руптуром плака тромбогени супстрат унутар језгра плака бива изложен крви и прокоагулансима што покреће каскаду згрушавања. Настаје брза адхезија, активација и агрегација тромбоцита чиме се формира тромб (3,4). Овако настали тромб може нарасти довољно да критично смањи или потпуно опструира проток крви кроз коронарну артерију, што узрокује исхемију срчаног мишића који снабдева та артерија (Слика 2.). Почетак исхемије покреће каскаду биохемијских и метаболичких процеса. Услед недостатка кисеоника срчане ћелије захваћене исхемијом прелазе са аеробног на анаеробни метаболизам, што узрокује смањење производње АТФ и повећање продукције лактата. Ова метаболичка промена узрокује накупљање јона водоника у ћелији и смањење интрацелуларне *pH* вредности, што у великој мери утиче на ћелијске функције. Поред тога, недостатак АТФ смањује активност јонских пумпи, услед чега настаје накупљање јона калцијума унутар кардиомиоцита. Вишак калцијума у ћелији узрокује активацију ензима који разграђују ћелијске структуре, чиме се додатно оштећују ћелије. Пролонгирање исхемије за последицу има одумирање кардиомиоцита, пре свега кроз процесе некрозе и апоптозе (5–7). Некроза је резултат тренутног оштећења и губитка интегритета мембране, што узрокује лизу ћелија и инфламацију. Апоптоза, или програмирана ћелијска смрт, настаје као регулисани процес који иницира ћелијска дисфункција. Исхемија најпре захвата субендокардни регион и напредује ка епикарду уколико изостане реканализација оклудiranог крвног суда, тако да уколико нема промптне терапијске реакције може да захвати читаву дебљину миокарда (трансмурални инфаркт) (8).



Слика 2. Прогресија атеросклерозе и развој инфаркта миокарда

Након ИМ, срце пролази кроз процес репарације који укључује уклањање некротичног ткива фагоцитима и замену ожиљним ткивом, које се састоји првенствено од колагена који депонују фибробласти који се трансформишу у миофибробласте. Овом ожиљном ткиву недостаје контрактилност здравог миокарда, што смањује срчану функцију и узрокује развој срчане инсуфицијенције. Штавише, процес ремоделирања такође може укључити хипертрофију преживелог миокарда, даље мењајући структуру и функцију срца. Дијагноза ИМ се потврђује комбинацијом клиничких симптома, електрокардиографских налаза и биомаркера као што су срчани тропонини. Разумевање основних механизма инфаркта миокарда је кључно за развој ефикасних третмана и побољшање исхода пацијената.

Примарни циљ у акутном лечењу ИМ је што је брже могуће обнављање дотока крви у захваћени део ткива. Ово се постиже тромболитичком терапијом или перкутаном коронарном ангиопластиком - ПКА (енгл. *percutaneous coronary intervention*). ПКА је ефикаснија у обнављању крвотока и побољшању исхода, али није доступна у свим окружењима због потребе за специјализованим установама и особљем.

Величина инфаркта је примарни фактор који утиче на неповољне исходе након инфаркта миокарда, укључујући и развој срчане инсуфицијенције. Због тога се активно траже терапије које могу смањити величину инфаркта, посебно из претпоставке да ће мањи инфаркти довести до бољих дугорочних перформанси срца. Терапије које циљају на редукцију величине инфаркта могу укључивати употребу лекова који побољшавају проток крви у срцу, као и новије методе лечења као што су стем ћелије или агенти за регенерацију срчаног ткива. Поред медицинског лечења, промене у начину живота, као што су здравија исхрана и редовна физичка активност, такође, могу имати кључну улогу у смањењу величине инфаркта и унапређењу општег здравља срца (9).

Током последњих 30 година, експерименталне студије су знатно утицале на разумевање механизма повреда миокарда и његовог ремоделирања, што је указало на

неколико обећавајућих стратегија лечења. Очигледно је да је заштита кардиомиоцита након исхемије важан терапијски циљ. Импресивни корисни ефекти ране реперфузије на клинички исход истакли су терапијски значај заштите кардиомиоцита од смртоносне исхемијске повреде. Експерименталне студије су предложиле неколико обећавајућих терапијских приступа и циљева, укључујући исхемијско посткондиционирање, редукцију оксидационог стреса, ублажавање преоптерећења калцијумом, циклоспорин, корекцију рН вредности и сузбијање пропатописких путева (10–12). Нажалост, имплементација ових кардиопротективних приступа у клиничком контексту остаје велики изазов.

Тренутна терапија инфаркта миокарда фокусирана је на реперфузију, тј. поновно успостављање протока крви кроз артерије. Реперфузија као терапија, је брзо успостављена као критична интервенција која не само да ограничава величину инфаркта већ и значајно побољшава функционалност ткива миокарда. Штавише, модификује динамику репарације захваћене зоне и, што је најважније, доводи до смањења стопе морталитета. Ова метода лечења је испитивана бројним експерименталним, али и клиничким истраживањима, чији резултати подржавају схватање да, иако је реперфузија корисна, може парадоксално да изазове додатно оштећење миокарда. Ово додатно оштећење, познато као реперфузиона повреда, настаје када се снабдевање крвљу враћа у ткиво након периода исхемије, потенцијално погоршавајући стање срца (13,14).

1.1.1 Исхемијско реперфузиона повреда

Феномен исхемијско-реперфузионе (ИР) повреде представља парадокс биологије, где ресторативни чин реперфузије исхемијског ткива парадоксално изазива даља оштећења. Овај загонетни процес деценијама је фасцинирао истраживаче и клиничаре, превазилазећи и пркосећи конвенционалним објашњењима. Да би се у потпуности схватили комплексни механизми ИР повреде, неопходно је сагледати овај феномен кроз време, при чему је од кључног значаја познавање патофизиолошких процеса који су у основи поремећаја.

Једно од најранијих истраживања од кључног значаја која се односе на ИР повреду спровео је Џенингс и сарадници 1960. године. Њихово истраживање пружило је први детаљан опис морфолошких промена које се дешавају у ћелијама миокарда током исхемије и накнадне реперфузије. Истакли су да иако сама исхемија наноси значајну штету, реперфузија убрзава и погоршава ћелијско оштећење. Ово револуционарно откриће је указало на чињеницу да сам чин враћања протока крви може бити штетан, темељно мењајући фокус потенцијалних терапијских интервенција.

Реперфузиона повреда обухвата низ патолошких супстрата. Поред реверзибилних последица реперфузионих повреда, као што су аритмије и пролазна дисфункција миокарда, постоји и трајна последица реперфузионе повреде, односно изумирање ћелија, која се јавља током реперфузије и потенцијално се може спречити благовременим терапијским интервенцијама у тренутку обнављања крвотока. Чврсти докази подржавају постојање фаталне реперфузионе повреде у експерименталним моделима инфаркта миокарда, али и код пацијената са инфарктом миокарда са ST-елевацијом (STEMI). Узроци су вероватно повезани са специфичностима примењених третмана или са пратећим факторима као што су старост пацијента, коморбидитети и претходно примењене терапијске процедуре и медикаменти. Откриће исхемијско реперфузионе повреде, је покренуло нову област истраживања и имало је велики утицај на даљи развој медицине, посебно у областима кардиологије и трансплантационе хирургије. Детаљније разумевање одређених патофизиолошких процеса који се одвијају током и након

исхемијских епизода утицало је на имплементацију иновативних дијагностичких и терапијских могућности које би могле значајно побољшати исходе за пацијенте са КВБ.

Након ових почетних запажања, концепт истраживања ИП повреде је проширен и на друге органе, укључујући бубреге, јетру и мозак, сматрајући да се механизми који изазивају оштећења у срцу могу применити и на друга ткива.

Braunwald и *Kloner* су указали на могуће механизме и последице реперфузионе повреде, као што су оксидациони стрес или калцијумски парадокс (15).

1.1.1.1 Механизми настанка реперфузионе повреде

Иако је концепт ИП повреде срца познат више од шест деценија, механизми који изазивају оштећење миокарда након поновног успостављања протока крви још увек нису у потпуности разјашњени. Током 1980-их, бројни истраживачи су посветили свој рад даљем истраживању ових комплексних процеса, откривајући да оштећење миокарда може бити резултат више узајамно повезаних механизма. Научници су, пружајући доказе за различите теорије покушали да објасне како реперфузија може изазвати широк спектар ћелијских и молекуларних поремећаја.

Једна од теорија је да оксидациони стрес игра кључну улогу у патогенези исхемијско-реперфузионе повреде срца. Током исхемије, поремећена равнотежа између слободних радикала и антиоксидационих система доводи до наглог повећања продукције реактивних кисеоничких врста (енгл. *Reactive Oxygen Species* - ROS), што може изазвати оштећење срчаних ћелија, ћелијских мембрана, протеина и ендотела погоршавајући ИП повреду. Водећи међу њима су супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$) и водоник пероксид (H_2O_2) који настају као последица поновног уноса молекулског кисеоника у исхемично ткиво и митохондријалне дисфункције где је нарушен ланац транспорта електрона (16,17). Такође, у ИП повреду укључени су и ензимски извори ROS у које се убрајају систем ксантин оксидазе, као и NADPH систем. У систему ксантин оксидазе долази до везивања ксантин оксидазе и кисеоника, формирајући ксантин, мокраћну киселину и O_2 и H_2O_2 . ROS настале на овај начин, путем експресије адхезионих протеина (*P-selectin* и *ICAM-1*) стимулишу продукцију цитокина и даља оштећења ћелија. С друге стране, NADPH (енгл. *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase*) оксидаза се активира услед присуства ћелијских медијатора запаљења као што су TNF- α , IFN- γ , фосфолипаза A2 и изазива даљу продукцију ROS (18).

Калцијумски парадокс је још један од кључних механизма ИП повреде и подразумева стање у када нагли унос калцијума у ћелије након периода исхемије доводи до оштећења или смрти кардиомиоцита. Током исхемије, концентрација калцијума у ћелијама се смањује, а мембране и ензими постају осетљиви на нагли пораст концентрације калцијума који се дешава током реперфузије. Повећан унос калцијума узрокује неконтролисане и снажне контракције кардиомиоцита, а такође, његов улазак у митохондрије може да изазове дисфункцију митохондрија и индукцију процеса апоптозе или некрозе (19,20).

Бројне студије указују на улогу митохондријалних пермеабилних транзиционих пора (енгл. *Mitochondrial Permeability Transition Pore* - MPTP) у дисфункцији срца услед ИП повреде (21,22). MPTP је неселективни канал завистан од поларизације митохондријске мембране, који се налази са унутрашње стране мембране митохондрија. У физиолошким околностима, унутрашња митохондријална мембрана је релативно непропустљива, а у условима исхемије MPTP је затворен. С друге стране, каскадни процеси у реперфузији као што су реоксигенација и обнављање транспорта електрона, нагло повећање продукције ROS, повећање унутарћелијске концентрације јона калцијума

и фосфата и као и смањење концентрације јона магнезијума узрокују отварање МПТР. Као последица отварања МПТР ослобађа се цитохром С и активира каспаза-9, која индукује процес апоптозе ћелије. У овом контексту, вреди поново истакнути улогу ROS, јер оне могу саме по себи стимулисати додатну продукцију ROS кроз позитивну повратну спрегу, што је повезано са деполаризацијом митохондрија и индукцијом МПТР. Ипак, механизам ове „ROS изазвана продукција ROS“ још увек није потпуно разјашњен (23–25).

Улога инфламације у ИР повреди срца још увек није у потпуности разјашњена. Студије су показале да се услед ИР повреде активирају инфламацијски путеви и инфламацијски одговор, што узрокује повећану инфилтрацију неутрофила и макрофага, као и продукцију проинфламацијских медијатора. Ипак, постоји непознаница у вези са тим да ли је инфламацијски одговор који прати ИМ директно изазива функционалне и морфолошке промене у срчаном ткиву или је инфламација, пак с друге стране, одговор на акутну повреду миокарда (26,27).

Поремећај микроциркулације је још један важан механизам који доприноси ИР повреди срца. Реперфузија може да узрокује поремећај вазодилатације и микроваскуларну дисфункцију, што ограничава доток крви у оштећену регију срца. Ово може даље погоршати ИР повреду, ограничавајући опоравак срчаног ткива и функције срца након акутног догађаја.

У целини, ИР повреда срца је комплексан патофизиолошки процес који укључује интеракцију између оксидационог стреса, инфламације, поремећаја микроциркулације и апоптозе. Разумевање ових механизма је кључно за развој нових терапијских приступа и стратегија превенције како би се смањила оштећења срчаног ткива и побољшала прогноза пацијената.

1.2 МЕТАБОЛИЧКИ СИНДРОМ

Бројни поремећаји представљају фактор ризика за ИБС, међу којима је и метаболички синдром. Наиме, повезаност између висцералне гојазности, хипертензије и атеросклерозе први пут је приметио и у научној литератури дискутовао италијански анатом *Giovanni Battista Morgagni* давне 1765. године, а тек много година касније постављен је основ за стање које се данас назива метаболички синдром (МетС) (28). МетС представља кластер више различитих кардиоваскуларних фактора ризика који заједно повећавају ризик за настанак атеросклерозе која, као што је већ речено, може да изазове сужења или блокаде коронарних артерија узрокујући ИБС (29). Истраживања из ове области сугеришу да су пацијенти са МетС у три пута већем ризику од обољевања од акутног инфаркта миокарда и можданог удара, а самим тим је и ризик од смртог исхода значајно већи (30).

У литератури се могу пронаћи различити називи за ово стање: синдром инсулинске резистенције, синдром Х, смртоносни квартет, *Reaven*-ов синдром и други (31–33). Имајући у виду комплексност МетС, не чуди ни чињеница да га различите организације, попут Светске Здравствене Организације (СЗО), Интернационалне федерације за дијабетес, Америчке асоцијације клиничких ендокринолога, Европске групе која проучава инсулинску резистенцију и многе друге, дефинишу на другачије, али веома сличне начине. Једна од првих свеобухватних дефиниција МетС је дефиниција СЗО из 1999. године, према којој се МетС дијагностикује код пацијената чији су нивои гликемије наште веће од 6,1 mmol/L, односно 110 mg/dl, док су нивои гликемије 2 h након јела изнад 7,8 mmol, односно 140 mg/dl. Уз то, пацијент мора да испуњава и најмање два

од следећа четири критеријума: (1) вредности липопротеина високе густине (енгл. *High-Density Lipoprotein* HDL) ниже од 0,9 mmol/L (35 mg/dl) код мушкараца и ниже од 1,0 mmol/L (40 mg/dl) код жена; (2) вредности триглицерида виши од 1,7 mmol/L (150 mg/dl); (3) однос између обима струка и кука већи од 0,9 код мушкараца, односно већи од 0,85 код жена или BMI (енгл. *Body Mass Index*) већи од 30 kg/m²; (4) вредности крвног притиска веће од 140/90 mmHg (29). Са друге стране, према последњем водичу за лечење дијабетеса *Adult Treatment Panel-III* из 2004. године, **МетС се дијагностикује** код пацијената који има најмање три од следећих пет критеријума: (1) обим струка већи од 102 cm код мушкараца, односно већи од 88 cm код жена; (2) вредности артеријског крвног притиска веће од 130/85 mmHg; (3) вредности гликемије наше веће од 110 mg/dl; (4) вредности триглицерида веће од 1,7 mmol/L (150 mg/dL); (5) вредности HDL веће од 1,0 mmol/L (40 mg/dL) код мушкараца, односно веће од 1,4 mmol/L (50 mg/dL) код жена (34). Управо због разлика у дефиницијама различитих организација, 2009. године је усаглашена дефиниција према којој је неопходно да буду испуњена три или више критеријума да би дијагноза МетС била потврђена: (1) обим струка код мушкараца преко 102 cm, код жена преко 88 cm, у зависности од географских и етничких специфичности; (2) вредности HDL веће од 1,0 mmol/L (40 mg/dL) код мушкараца, односно веће од 1,4 mmol/L (50 mg/dL) код жена; (3) вредности триглицерида веће од 1,7 mmol/L (150 mg/dL) или пацијенти на који узимају терапију за хипертриглицеридемију; (4) вредности гликемије наше веће од 5,6 mmol/L (110 mg/dl); (5) вредности артеријског крвног притиска већи од 130/85 mmHg или пацијенти који узимају антихипертензивну терапију (35).

Имајући у виду да МетС значајно повећава ризик за настанак бројних обољења попут дијабетес мелитуса тип 2, кардиоваскуларних обољења, синдрома полицистичних јајника, неалкохолне масне болести јетре, хроничне болести бубрега, неких врста карцинома, остеоартритиса и других, скрининг коморбидитета треба да буде саставни део лечења пацијената са МетС. Пацијенти са МетС имају већи ризик за ИМ, срчану инсуфицијенцију, микроваскуларне дисфункције, коронарну атеросклерозу, јер је и свака компонента МетС појединачно фактор ризика за настанак кардиоваскуларних болести (28,36). У поређењу са другим факторима ризика хипертензија се издваја као један од најзначајнијих фактора ризика од КВБ, а уз то представља и кључну одлику МетС.

Међутим, управо због комплексности, МетС се често не дијагностикује. Такође, услед разлика у зависности од географских и социодемографских фактора, веома је тешко говорити о инциденци и преваленци овог стања, али се сматра да је три пута чешћи од дијабетеса и да 20 до 45% светске популације болује од МетС (29,30). Наиме, пораст преваленце МетС је директно пропорционалан порасту преваленце гојазности и дијабетес мелитуса тип 2, па не чуди ни чињеница да инциденца МетС значајно расте готово на годишњем нивоу, како код одраслих, тако и код деце и адолесцената (37).

На основу досадашњих сазнања из литературе не може се са сигурношћу објаснити значај инсулинске резистенције и гојазности на развој МетС, јер само једна трећина гојазних пацијената развије и МетС (38). Највероватније су неопходни и други фактори, попут генетике и спољашњих фактора (стес, конзумација цигарета, алкохола, седентарни начин живота) који доприносе настанку овог синдрома (39). Међутим, свакако се абдоминална гојазност сматра једним од најзначајнијих покретача метаболичких компликација који настају у организму. Седентарни начин живота и неадекватна исхрана, како код одраслих, тако и код деце, представљају најважније факторе који доприносе повећању количине масног ткива и нивоа цитокина, а самим тим преко метаболичких и хормонских механизма долази до настанка гојазности,

инсулинске резистенције и МетС (33). Са друге стране, инсулинска резистенција може довести до хипергликемије, хипертензије, дислипидемије, висцералне гојазности, хиперурикемије, повећања маркера инфламације, ендотелне дисфункције и тромбозе, што такође може довести до МетС, али и других хроничних обољења попут неалкохолне масне јетре и дијабетес мелитуса тип 2 (40,41).

Иако се основна начела о МетС знају, детаљни физиолошки и молекулски механизми метаболичких, функционалних и васкуларних промена и даље нису довољно разјашњени. Последњих деценија, многи научници сугеришу да управо због свих фактора који доприносе развоју МетС долази до активације симпатичког нервног система, ренин-ангиотензин-алдостерон система (РААС), као и до повећања вредности проинфламацијских цитокина и адипокина. Све ово заједно узрокује повећање фреквенце срца, васкуларног отпора, вентрикуларно ендотелног, минутног и волумена циркулишуће крви, а самим тим и до повећаног ризика за настанак КВБ (42). Такође, РААС делује на систем за накупљање воде у организму и узрокује повећања крвног притиска који је независан и веома значајан фактор ризика за развој МетС (43). МетС доприноси и појави значајних патофизиолошких промена у миокарду, дисфункције на микроваскуларном нивоу, поремећене равнотеже у снабдевању и потражњи кисеоника, као и контрактилне срчане дисфункције и хипертрофије срца (28,44).

Такође, један од значајнијих фактора у развоју МетС је и пораст нивоа слободних масних киселина у циркулацији које, у највећој мери, настају из триглицерида, при чему је хипертриглицеридемија независни фактор који доприноси многим стањима која су директно и индиректно повезана са МетС и КВБ. Поремећај липида изазива повећање синтезе липопротеина веома ниске густине (енгл. *Very-Low-Density Lipoprotein* - VLDL) и смањеног капацитета за липолизу (45). Са друге стране, триглицериди повећавају ризик за настанак гојазности, што како је већ и споменуто, уједно и директан предиспонирајући фактор за МетС. Дакле, триглицериди су директно повезани са развојем дијабетеса, гојазности, атеросклеротичне кардиоваскуларне болести, а самим тим и МетС (36).

1.2.1 Механизми настанка метаболичког синдрома

Када је реч о молекуларном механизму који је у основи настанка МетС, посебна пажња треба се посветити оксидационом стресу, односно реактивним кисеоничним врстама. Наиме, прекомерена производња ROS настаје као последица бројних патолошких поремећаја као што су гојазност, хронична инфламација, инсулинска резистенција, хипергликемија и дислипидемија (46). Досадашњи литературни подаци указују да пацијената са МетС имају знатно нижу активност антиоксидационих ензима која последично доводи до оксидационог стреса, али и прекомерене активације неактивних протеина који узрокују апоптозу и оштећења ДНК (47). Акумулацијом модификованих протеина смањује се њихова функција и смањује се ћелијска активност (35,42). Са друге стране, оксидациони стрес узрокује унутарћелијска оштећења и накупљање оксидационих продуката, чиме се поспешује ендотелна дисфункција, која изазива инсулинску резистенцију, хипертензију, дислипидемију и у крајњој линији и МетС. Такође, оксидациони стрес има штетне ефекте на експресију гена, повећава факторе раста, додатно активира апоптозу и промовише инфламацију и фиброзу. Сви наведени поремећаји заједно утичу на метаболичку сигнализацију инсулина и ендотелну дисфункцију које узрокују кардиоваскуларну и бубрежну инфламацију и фиброзу, што изазива органску дисфункцију. На овај начин, оксидациони стрес у комбинацији са инфламацијом доприноси патогенези метаболичког синдрома. Самим тим може се

закључити да МетС може бити последица, али и узрок прекомерног настанка ROS и управо ово питање намеће се у многим дебатама научника широм света (35,48,49).

1.2.2 Терапија метаболичког синдрома

Правовременим препознавањем и лечењем компликација МетС може се директно утицати на здравље пацијента, али и на превенцију компликација које настају као последица МетС. За успешну терапију пацијент са МетС потребно је редуковати телесну тежину, крвни притисак, дислипидемију и инсулинску резистенцију чиме ће се спречити настанак дијабетес мелитуса тип 2 (50,51). За терапију крвног притиска препоручују се инхибитори ангиотензин конвертујућег ензима (ACE инхибитори), антагонисти ангиотензинских рецептора, блокатори калцијумских канала и бета блокатори са вазодилаторним ефектима као што су карведилол и небиволол, док се за терапију дислипидемије препоручују се статини и фибрати као што је росувастатин и симвастатин. Међутим, многе здравствене организације као кључни фактор у терапији издвајају промену стила живота, пре свега у погледу исхране и физичке активности, чиме се директно редукује телесна тежина, а самим тим и инциденца МетС. Физичка активност представља неопходан део лечења овог синдрома, али се саветује и медитеранска исхрана, која се базира на конзумацији воћа, поврћа, махунарки, маслиновог уља, орашастих плодова и рибе, уз умерен унос црвеног вина, млечних производа и црвеног меса. Медитерански образац исхране фокусира се на унос природних антиоксиданаса и биоактивна једињења као што су полифеноли нарингенин, апигенин и елагинска киселина (52). Овим начином исхране смањује се ризик од развоја МетС, а самим тим и КВБ, јер се инхибира инфламација и NF-κB и смањује лучење проинфламацијских цитокина (IL-6), C-реактивног протеина, оксидованог LDL (53,54). Како би се побољшали ефекти дијете и физичке активности, препоручује се и фармаколошка терапија орлистатом, сибутрамином (55,56).

Међутим, ни један од, до сада познатих, фармаколошких агенаса није постигао успехе у смислу дугорочне контроле свих фактора које улазе у састав МетС, па је фокус начника широм света и даље у проналаску нових ефикаснијих агенаса који би постигли успех у лечењу овог обољења. Управо због тога је и циљ ове студије да се испита ефикасност нових антидијабетика из групе агониста за рецептор пептида сличних глутагону 1 (енгл. *Glucagon-Like Peptide-1 GLP-1*) на експерименталном моделу метаболичког синдрома и исхемијско реперфузионе повреде.

Класа лекова која се све више користи за лечење дијабетеса типа 2 и има потенцијал да значајно утиче на метаболички синдром је агонисти рецептора за GLP-1 (агонисти GLP-1R или GLP-1 агонисти). Истраживања су показала да GLP-1 агонисти могу имати благотворан ефекат на све компоненте метаболичког синдрома, што их чини значајним терапијским опцијама у управљању овим комплексним стањем.

1.3 ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУТАГОНУ-1

Пептид сличан глутагону-1 (енгл. *Glucagon Like Peptid 1 - GLP-1*) заузима централно место у савременом разумевању регулације нивоа глукозе у крви и терапији дијабетеса. Овај пептид, који припада групи инкретинских хормона, има кључну улогу у одржавању хомеостазе глукозе, стимулишући секрецију инсулина и инхибирајући секрецију глутагона, али такође утиче на метаболизам и апетит на разне друге начине. Откриће GLP-1, његових рецептора као и развој лекова агониста GLP-1 представљају велики напредак у медицини дајући обећавајуће резултате, посебно у области

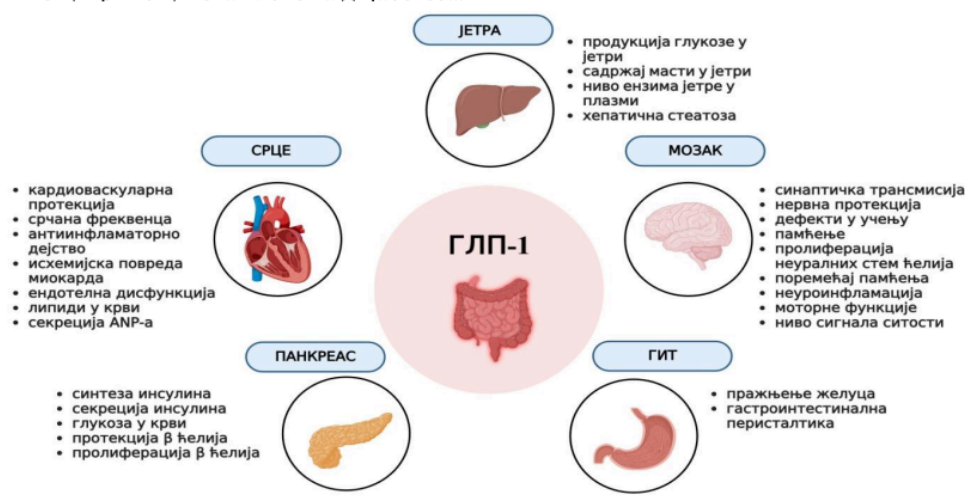
ендокринологије и терапије дијабетеса типа 2 са посебним фокусом на кардиопротекцију (57,58).

1.3.1 Откриће GLP-1

Историја и откриће GLP-1 повезано је са истраживањем инкретинског система и његове улоге у секрецији инсулина и регулацији гликемије. GLP-1, заједно са глюкозно-зависним инсулиноotropним полипептидом (GIP), чини инкретинске hormone који значајно појачавају секрецију инсулина на начин зависан од глюкозе (59).

Истраживања GLP-1 започета су у другој половини 20. века, а прекретница је била 1987. године када су Мојсов и Холст заједно са колегама идентификовали GLP-1 као продукт процесирања проглукагона у цревним L-ћелијама. Приметили су да се GLP-1, као и други инкретини, ослобађа као одговор на унос хране и има снажан утицај на секрецију инсулина, чиме су утврђена његова инкретинска својства. Ефекти GLP-1 детаљно су описани кроз разне студије које не само да су потврдиле улогу hormone у стимулацији инсулина, већ су детаљно описале и његове инхибиторне ефекте на секрецију глукагона (60). Ова открића истакла су кључну улогу GLP-1 у одржавању глюкозне хомеостазе. Од тада, GLP-1 се активно истражује као потенцијални третман за дијабетес типа 2, захваљујући његовој способности да побољшава секрецију инсулина у условима повишене концентрације глюкозе у крви. Додатна истраживања показала су да GLP-1 утиче на мотилитет желуца и апетит, што је додатно нагласило његов потенцијал као мету за лечење гојазности и дијабетеса типа 2.

Рецептор за GLP-1, који је основни услов за његово деловање, откривен је 1992. године. Овај рецептор је члан широке фамилије G-протеин повезаних рецептора и распрострањен је по читавом организму, укључујући гастроинтестинални тракт, панкреас, мозак, срце, бубреге што указује његове разноврсне физиолошке улоге (Слика 3) (59). Распрострањеност рецептора такође наглашава и потенцијал терапијских могућности које се заснивају на GLP-1 у разним медицинским областима, проширујући њихову примену изван лечења дијабетеса.



Слика 3. Улога и распрострањеност GLP-1 рецептора у организму

1.3.2 Улога и механизам деловања GLP-1 у организму

Панкреас је примарни орган где GLP-1 испољава своје најзначајније ефекте. GLP-1 повећава секрецију инсулина кроз cAMP-PKA пут. Када се GLP-1 веже за свој рецептор на β -ћелијама панкреаса, активира аденилил циклазу, чиме се повећава концентрација цикличног аденозин монофосфата (cAMP). cAMP затим активира протеин киназу А (PKA), која фосфорилише различите протеине укључене у секрецију инсулина. Овај пут не само да повећава количину инсулина која се ослобађа као одговор на глукозу, већ и побољшава синтезу инсулина, обезбеђујући одржив одговор на унос глукозе (61,62).

Поред тога, GLP-1 промовише пролиферацију β -ћелија. Ово се остварује путем PI3K/Akt пута. Активација PI3K изазива повећање производње фосфатидилинозитол (3,4,5)-трифосфата (PIP3), који активира Akt. Akt затим промовише преживљавање ћелија инхибирањем апоптотичких путева и стимулише пролиферацију β -ћелија (63,64). Ово је посебно важно у лечењу дијабетеса, јер помаже у очувању и потенцијалном враћању масе β -ћелија.

GLP-1 такође инхибира секрецију глукагона из α -ћелија панкреаса и смањује производње глукозе у јетри, чиме помаже у одржавању физиолошких вредности гликемије. Сматра се да се овај ефекат остварује сигнализацијом унутар Лангерхансових острваца, где GLP-1 ослобођен из β -ћелија делује на суседне α -ћелије и инхибира ослобађање глукагона (65).

GLP-1 рецептори (GLP-1R) су постоје у неколико региона мозга, укључујући хипоталамус, хипокампус и кору великог мозга. Одређене студије су показале да активација GLP-1 рецептора испољава неуропротективне ефекте у моделима неуродегенеративних болести као што су Алцхајмерова и Паркинсонова болест. Један од кључних сигналних путева је, претходно спомињан, PI3K/Akt пут који. Овај пут у неуронима такође побољшава неурогенезу и синаптичку пластичност, који су важни за когнитивну функцију и памћење. GLP-1 такође смањује оксидациони стрес и инфламацију у мозгу, тако што повећава експресију антиоксидационих ензима и смањује продукцију проинфламацијских цитокина. Смањујући оксидациони стрес и инфламацију, GLP-1 помаже у заштити неурона од оштећења и доприноси здрављу мозга (66).

Такође, кроз своје деловање на хипоталамус, активацијом рецептора за GLP-1 регулише се апетит и унос хране, продужава осећај ситости након оброка и последично смањује телесна тежина (67).

GLP-1 и његови аналози показали су да пружају значајне кардиопротективне ефекте, посебно током ИР повреде. Кардиопротективни механизми GLP-1 укључују неколико путева. Један од кључних сигналних путева је активација митохондријских АТР-сензитивних калијумских канала (mtK(ATP)). Отварање ових канала помаже у одржавању митохондријског мембранског потенцијала и спречавању бубрења митохондрија, чиме се спречава смрт ћелија током исхемијских догађаја (68).

Други важан сигнални пут је PI3K/Akt. У срцу, активација GLP-1R узрокује активацију PI3K, који затим активира Akt. Akt промовише преживљавање ћелија и смањује апоптозу инхибирањем про-апоптотичких фактора и активацијом анти-апоптотичких фактора. Овај сигнални пут такође побољшава ангиогенезу, чиме се побољшава проток крви и допремање кисеоника у срчани мишић током и након исхемијских догађаја (69).

GLP-1 смањује и оксидациони стрес у срцу. Ово се постиже повећањем експресије антиоксидационих ензима и смањењем продукције ROS. Смањујући оксидациони стрес, GLP-1 помаже у заштити срчаних ћелија од оштећења током ИР повреде (68,69).

1.3.3 Агонисти рецептора за GLP-1

Агонисти GLP-1R су првобитно развијени за лечење дијабетеса типа 2. Препоручују се као прва линија терапије за дијабетес типа 2, посебно код пацијената са атеросклеротском кардиоваскуларном болешћу или гојазношћу. Поред лечења дијабетеса и гојазности, агонисти GLP-1R се истражују и за друге медицинске индикације, као што су неалкохолна масна болест јетре, синдром полицистичних јајника. Агонисти GLP-1R представљају значајан напредак у модерној медицини, нудећи нове опције за управљање хроничним болестима и побољшање квалитета живота пацијената

1.3.3.1 Ексенатид

Ексенатид је пептид од 39 аминокиселина, откривен 1992. године као синтетичка верзија протеина изолованог из плувачке Гила гуштера (*Heloderma suspectum*) (70).

Ексенатид се једноставно везује за панкреасни GLP-1R. Његова аминокиселинска секвенца се 50% подудара са хуманим GLP-1, али имајући у виду да је отпоран на разградњу дејством диептидил пептидазе-4 (DPP-4), има дужи полуживот.

Ексенатид је први пут одобрен за клиничку употребу 2005. године у облику субкутане инјекције која се апликује два пута дневно у дози од 5 до 10 µg, а 2012. године одобрена је и његова формулација са продуженим ослобађањем која се примењује једном недељно у дози од 2 mg (71). Након поткожне примене, за око 2 сата достиже максималне концентрације у плазми, а време полумелиминације је 3 сата. Фармаколошка активност траје у опсегу од 6 до 8 сати, а елиминира се путем урина, гломеруларном филтрацијом.

Ексенатид остварује своје ефекте везивањем за GLP-1 рецепторе на β-хелијама панкреаса и утиче на лучење инсулина зависно од гликемије. Такође, инхибира ослобађање глутагона и успорава пражњење желуца, промовишући осећај ситости. На молекулском нивоу, ексенатид повећава производњу cAMP, који активира PKA и Epac2 пут, доводећи до фосфорилације протеина укључених у лучење инсулина (72).

Ексенатид је погодан за пацијенте са благом до умереном бубрежном инсуфицијенцијом. Међутим, његова употреба се не препоручује код пацијената са тешким бубрежним оштећењем (клиренс креатинина [CLcr] < 30 mL/min) због продуженог времена полумелиминације што указује на могућу акумулацију након примене два пута дневно.

Уобичајени нежељени ефекти укључују гастроинтестиналне проблеме, као што су мучнина, повраћање и дијареја. Озбиљни, али ретки нежељени ефекти укључују панкреатитис и оштећење бубрега (71,72).

Способност ексенатида да побољша осетљивост на инсулин, смањи телесну тежину и крвни притисак чини га корисним за лечење MetC (73,74). Побољшавајући ендотелну функцију и смањујући упалу, ексенатид помаже и у смањењу кардиоваскуларних ризика повезаних са MetC (75).

Ексенатид пружа заштитне ефекте против ИР повреде смањењем оксидационог стреса и инфламације. Повећава унос глукозе у миокард и побољшава ендотелну хомеостазу калцијума, што штити срце током исхемијских догађаја (76). У студијама на животињама, ексенатид је смањио величину инфаркта и побољшао срчану функцију након исхемијско-реперфузионе повреде, истичући његов потенцијал као терапеутског агенса у кардиоваскуларним болестима (72,76).

1.3.3.2 Лираглутид

Лираглутид, развијен од стране компаније *Novo Nordisk*, представља дуго делујући аналог GLP-1 који је одобрен за употребу у лечењу дијабетеса типа 2 и

гојазности. Он је дизајниран модификацијом GLP-1 молекула како би био отпоран на разградњу деловањем DPP-4 и како би се продужио његов полуживот путем ациловања са ланцем масне киселине, што омогућава дозирање једном дневно. Лираглутид је одобрен за клиничку употребу 2009. године (77).

Као и његов претходник, лираглутид се везује за GLP-1R, стимулише лучење инсулина, смањује апетит и ослобађање глюкагона. Он активира сличне путеве као ексенатид, повећавајући производњу cAMP, активирајући PKA и модулирајући активност више ниже пласираних ефектора укључених у метаболизам глукозе и лучење инсулина (72).

Лираглутид је индикуван за лечење дијабетеса типа 2 и гојазности. Типична доза за лечење дијабетеса почиње са 0,6 mg дневно, повећавајући се до 1,2 mg или 1,8 mg. За терапију гојазности максимална, доза износи 3 mg дневно (77,78).

Лираглутид побољшава кардиоваскуларне исходе смањујући ризик од главних нежељених кардиоваскуларних догађаја што је показано у различитим моделима хроничне срчане инсуфицијенције и исхемијско-реперфузионе повреде. Ефекти лираглутида се не задржавају на срцу, панкреасу и гојазности, већ су показани различити ефекти на различите системе органа.

Лираглутид побољшава липидне профиле смањењем вредности триглицерида и повећањем вредности HDL у крви. Он утиче на експресију гена који регулишу липидни метаболизам, као што су пероксизом-пролифератор активирани рецептори (енгл. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* - PPAR) и стерол регулаторни елемент-везујући протеини (енгл. *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins* - SREBP), смањујући атерогени ризик. Такође, смањује инфламацију и фиброзу у јетри модулирањем експресије проинфламацијских цитокина као што су TNF- α и TGF- β , као и преживљавање хепатоцита и смањује апоптозу путем активације анти-апоптозских путева, као што су пут PI3K/Akt и MAPK/ERK. Ефекат на бубреге остварује смањењем гломеруларног притиска кроз модулацију реналне хемодинамике и смањење нивоа ангиотензина 2. Смањивањем експресије проинфламацијских цитокина као што је IL-6, умањује инфламацију у бубрезима (79).

Уобичајени нежељени ефекти укључују главобољу, мучнину, повраћање и дијареју. Озбиљни, али ретки нежељени ефекти укључују панкреатитис и неалкохолни стеатохепатитис (облик масне јетре који није узрокован конзумацијом алкохола) (80). Лираглутид је такође повезан са повећаним ризиком од папиларног карциноми тиреоиде (81).

Лираглутид делује на више патолошких компоненти које улазе у састав MetC, укључујући хипергликемију, хипертензију и дислипидемију. Антиинфламацијски ефекти, као и ефекат смањења липида, доприносе способности лираглутида да ублажи ризике повезане са MetC (82).

Лираглутид побољшава ендотелну функцију миокарда, што штити срце током исхемијских догађаја. У претклиничким студијама показано је да лираглутид смањује величину инфаркта и побољшава функцију срца након ИР повреде, истичући његов потенцијал као терапеутског агенса у кардиоваскуларним болестима (72,82).

1.3.3.3 Дулаглутид

Дулаглутид, развијен је од стране компаније *Eli Lilly* и одобрен од стране FDA 2014. године за лечење дијабетеса типа 2. Овај дуго делујући агонист GLP-1R је дизајниран коришћењем рекомбинантне ДНК технологије и примењује се једном недељно (83).

Као и остали представници групе, везује се за GLP-1R, активирајући аденилат циклазу у β -ћелијама панкреаса чиме се повећава продукција cAMP, што накнадно

активира РКА и друге сигналне путеве, потенцирајући лучење инсулина. Још бољој контроли гликемије помаже и потенцијал дулаглутида да смањи лучење глукагона и успори пражњење желуца (84).

Дулаглутид је индикован за терапију дијабетеса тип 2. Примењује се као поткожна инјекција од 0,75 mg или 1,5 mg једном недељно. Овај режим дозирања поједностављује лечење и потенцијално побољшава придржавање терапији од стране пацијената (83).

Као и код свих представника GLP-1R агониста нежељени ефекти укључују гастроинтестиналне проблеме. Мање учестали нежељени ефекти укључују алергијске реакције и поремећаје вида. Дулаглутид је, такође, повезан са повећаним ризиком од карцинома панкреаса и тумора штитасте жлезде и зато се не препоручује особама са личном или породичном историјом медуларног карцинома штитасте жлезде (84).

Бројне студије указују ренопротективне ефекте дулаглутида. Он смањује инфламацију и фиброзу у бубрезима кроз инхибицију нуклеарног фактора капа-В (NF-κB) и других инфламацијских медијатора. Ови ефекти су посредовани GLP-1R-зависним и независним путевима, што резултира побољшањем функције бубрега и смањењем ризика од хроничне болести бубрега. Такође смањује албуминурију и гломеруларну филтрацију и успорава прогресију дијабетичке нефропатије и побољшава реналну хемодинамику (85). Ефекти дулаглутида нису ограничени само на регулацију гликемије и ренопротекцију, што сугеришу бројне студије које истражују његове шире терапијске потенцијале. Такође, у контексту неуропротекције, дулаглутид побољшава когнитивне функције и смањује неуринфламацију, што је важно за лечење неуродегенеративних болести као што су Алцхајмерова болест и васкуларна деменција. Механизми укључују инхибицију апоптозе и подршку неуронској пластичности кроз активацију PI3K/Akt/mTOR сигналног пута. Овај механизам је кључан за заштиту мозга од оксидационог стреса и инфламације (86,87).

Све ове студије указују на чињеницу да дулаглутид има мултифункционалне терапијске ефекте, што га чини вредним алатом у лечењу различитих патолошких стања повезаних са MetC и другим хроничним болестима.

1.3.3.4 Семаглутид

Семаглутид, познатији као *Ozempic*, развијен од стране компаније *Novo Nordisk*, одобрен је за употребу у лечењу дијабетеса типа 2 у 2017. години, а за терапију гојазности у 2020. години. Овај лек има структурне модификације, укључујући две супституције аминокиселина на позицијама 8 и 34, које повећавају стабилност молекула и везују га за серумски албумин, што доприноси продуженом дејству у организму (88). Фармакокинетска исштивања семаглутида показују да лек има полу-живот од око 160 сати, што омогућава једнонедељну примену. Такође је развијен у оралној форми, што је значајно побољшање у поређењу са другим GLP-1R агонистима који су искључиво доступни у инјекционом облику. Семаглутид за оралну примену је формулисан са појачивачем апсорпције, натријум N-(8-[2-хидроксибензоил] амино) каприлатом (SNAC), који омогућава бољу апсорпцију у гастроинтестиналном тракту (89). Доступност у пероралној форми чине га изузетно практичним леком, а уједно ова карактеристике и издваја семаглутид од других GLP-1R агониста.

Семаглутид се везује за GLP-1R, и као и остали представници групе потенцира лучење инсулина и смањење лучења глукагона. Обзиром да има могућност везивања за серумски албумин, спречава се брза разградња и повећава стабилност молекула у циркулацији. Предност оралног облика семаглутида, није само у начину примене, већ и могућност апсорпције лека у гастроинтестиналном тракту у присуству хране (88,89).

Семаглутид је индикуван првобитно за лечење дијабетеса мелитуса типа 2 а касније и за хронично управљање тежином. Семаглутид у инјекционој форми се обично примењује субкутано једном недељно. Препоручена почетна доза је 0,25 mg једном недељно током првих четири недеље. Након тога, доза се повећава на 0,5 mg једном недељно. Ако је потребна додатна контрола гликемије, доза се може повећати до максималне дозе од 1 mg једном недељно. Уколико је семаглутид ординан за редукцију тежине режим примене је следећи:

Прве четири недеље доза износи 0,25 mg субкутано једном недељно, дозу сваке 4 недеље треба повећавати у следећем режиму: од 5. до 8. недеље: 0,5 mg субкутано једном недељно; од 9. до 12. недеље: 1 mg субкутано једном недељно; од 13. до 16. недеље: 1,7 mg субкутано једном недељно. Од 17. недеље од почетка терапије примењује се у дози од 2,4 mg субкутано једном недељно (90).

Семаглутид (*Rybelsus*) који се примењује *per os*, узима се једном дневно на празан стомак, најмање 30 минута пре првог obroка, напитка или другог лека, са малом количином воде (до 120 ml). Почетна доза износи 3 mg једном дневно (30 дана), након тога доза одржавања износи 7 mg једном дневно. Максимална доза је 14 mg једном дневно (ако је потребна додатна контрола гликемије) (89).

Уобичајени нежељени ефекти укључују гастроинтестиналне проблеме као што су мучнина, повраћање и дијареја. Озбиљни нежељени ефекти укључују панкреатитис и туморе ћелија штитасте жлезде. Семаглутид је такође повезан са повећаним ризиком од обољења жучне кесе (91).

Широка распрострањеност GLP-1R омогућава семаглутиду да пружи разноврсне терапијске ефекте. Поред одобрених индикација, истраживања су указала на потенцијал семаглутида да побољша когнитивна оштећења и неуролошке дефиците. Претклиничке и клиничке студије показале су неуропротективне ефекте семаглутида код неуродегенеративних болести. На пример, у експерименталном моделу можданог удара код пацова, семаглутид је смањио величину инфаркта, инфламацију али и губитак неурона (92). Такође, третман семаглутидом побољшало је моторичке поремећаје и смањио неуропатолошке карактеристике на хроничном моделу Паркинсонове болести код мишева (93).

Кардиопротективни потенцијал семаглутида се испитује дуги низ година, па су бројне студије потврдиле бенефит у различитим срчаним обољењима и стањима. Једна од њих је показала да семаглутид смањује кардиотоксичност цисплатине модулацијом митохондријалних функција, редукцијом апоптозе и редокс статуса (94). Такође хронични третман семаглутидом може смањити кардиомиопатију изазвану вежбањем смањењем инфламацијског одговора активирањем AMP-активираних протеин киназа (AMPK), инхибицијом оксидационог стреса у миокарду (95). *Qiuxia* је у својој студији на експерименталном моделу ИП срца, да семаглутид инхибира апоптозу кардиомиоцита активирањем PKG/PKCε/ERK1/2 пута (96).

Можемо закључити да је метаболички синдром комплексно стање које значајно повећава ризик од кардиоваскуларних обољења, укључујући исхемијско реперфузиону повреду срца. У том контексту, истраживања су показала да агонисти GLP-1R могу имати заштитне ефекте на кардиоваскуларни систем, посебно у случајевима ИП повреде срца. Ова студија има за циљ да истражи потенцијалне заштитне ефекте различитих GLP-1R агониста на срце пацова са метаболичким синдромом, те да допринесе бољем разумевању механизма који стоје иза ових ефеката.

1.3.4 Антиоксидациони потенцијал GLP-1 агониста

У стању хомеостазе, продукција ROS одржава се на ниском нивоу балансирањем њихове продукције и уклањања, што доприноси нормалној физиолошкој функцији (97). Међутим, када механизми за њихово уклањање затаје или антиоксиданси нису довољно заступљени, долази до непотпуне оксидације и прекомерне продукције ROS, укључујући супероксид анион (O_2^-) и водоник-пероксид (H_2O_2), нитрити (NO_2^-). Ови вишкови ROS оштећују нуклеотиде, протеине и липиде, чинећи их нефункционални што даље имплицира апоптозу ћелије (98).

У последњој деценији, агонисти рецептора за пептид сличан глутагону-1 рецептора су показали изузетно обећавајуће резултате не само у контроли гликемије већ и у заштити кардиоваскуларног система од оксидативног стреса. Ови лекови, попут ексенатиде и дулаглутиде, делују кроз низ механизма који укључују редукцију производње ROS, инхибицију упалних процеса и активацију антиоксидативних ензима. Кроз ове процесе, GLP-1 агонисти могу смањити оксидативно оштећење ћелија миокарда и побољшати исходе код пацијената са дијабетесом и кардиоваскуларним обољењима (99).

Истраживања су показала да GLP-1 агонисти смањују инфламаторне биомаркере и смањују експресију проинфламаторних цитокина, што додатно доприноси њиховом антиоксидативном потенцијалу и кардиопротективном ефекту. У складу са тим, све већи број студија указује на значај GLP-1 агониста као потенцијално корисне терапије у превенцији и лечењу срчаних компликација, са фокусом на смањење оксидативног стреса и побољшање антиоксидативног капацитета ћелија.

Један од механизма антиоксидативне активности GLP-1 агониста јесте модулација NADPH оксидазе посредством cAMP/PKA пута. Овај ефекат GLP-1 агониста на оксидативни стрес независан је од његовог утицаја на снижавање нивоа глукозе у крви. Истраживања су показала да комбинација GLP-1 агониста и инсулина има додатне користи у смањењу оксидативног стреса изазваног хипергликемијом код пацијената са дијабетесом типа 2, с обзиром на то да инсулин смањује производњу слободних радикала, док GLP-1 агонисти повећавају интрацелуларну антиоксидативну одбрану. Такође, резултати истраживања које је поредило дулаглутид и лираглутид показују да оба лека имају сличан утицај на варијабилност гликемије и оксидативног стреса, с тим да није било значајних разлика у оксидативном стресу између ова два третмана. Ови налази потврђују тврдњу да GLP-1 агонисти могу имати позитиван ефекат на оксидативни стрес код дијабетичара, независно од њиховог учинка на метаболизам глукозе (100).

Поред лираглутида, показано је и да примена ексенатиде смањује ниво ROS у миокарду, чиме смањују оксидативни стрес и величину инфаркта. На молекуларном нивоу, GLP-1 агонисти инхибирају експресију NADPH оксидазе 2, ензима који катализује производњу O_2^- у кардиомиоцитима. Тиме се смањује производња слободних радикала у срцу. Осим што смањују ROS, GLP-1 агонисти повећавају експресију Nrf2 (енгл. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), транскрипционог фактора који регулише гене одговорне за антиоксидативну заштиту. Активација Nrf2 подстиче производњу протеина који помажу у неутрализацији оксидативног стреса. GLP-1 агонисти могу повећати експресију *Eras*, што додатно доприноси смањењу оксидативног стреса кроз активацију путева као што је GLP1R/PI3K/Akt/survivin. Ови механизми чине кардиомиоците отпорнијим на оксидативне изазове, укључујући смањење прекомерног накупљања калцијума, што је често узрок оштећења срца услед оксидативног стреса. Тиме указују на то да GLP-1 агонисти не само да побољшавају гликемију, већ и пружају

значајну заштиту срца од оксидативног оштећења, што их чини потенцијалним леком за терапију кардиоваскуларних болести, посебно код пацијената са дијабетесом (101).

Потенцијал ексенатида и лираглутида у смањењу оксидативног стреса и побољшању здравља кардиомиоцита, посебно у условима високог нивоа глукозе је поред *in vivo* показана и у истраживањима која су спроведена *in vitro*. Показано је да ексенатид умањује апоптозу и производњу ROS изазвану високим нивоом глукозе активацијом Nrf2 сигналног пута, што повећава антиоксидативни капацитет у кардиомиоцитима пацова. Исто тако, лираглутид, у комбинацији са емпаглифлозином, показује синергистички ефекат у смањењу смрти ћелија и оксидативног стреса изазваног високим нивоом глукозе. *In vivo* истраживања додатно потврђују ове налазе, показујући да GLP-1 агонисти смањују оксидативни стрес у миокарду. На пример, ексенатид је смањio оксидативни стрес у дијабетичким мишевима потискујући NOX-4 и повећавајући антиоксидативне ензиме као што су SOD и глутатион пероксидаза. Слично томе, лираглутид је смањio ниво триглицерида и диацилглицерола у миокарду, инхибирао активност NOX и смањio оксидативни стрес активацијом AMPK-Sirt1 пута у дијабетичким моделима пацова (102).

Клиничко истраживање је такође потврдило ове антиоксидативне ефекте код људи, са дулаглутидом који је довео до смањења нивоа плазматског 8-iso-PGF2 α , маркера оксидативног стреса, код пацијената са дијабетесом типа 2. Ови резултати сугеришу да GLP-1 агонисти испољавају антиоксидативне ефекте, смањујући производњу ROS и повећањем антиоксидативног капацитета, што се делимично дешава независно од њиховог ефекта на смањење глукозе у крви (103).

Третман GLP-1 агонистима повећава ниво серумских антиоксидативних ензима попут супероксид дисмутазе (SOD) и глутатиона, док истовремено смањују ниво циркулишућих оксидованих честица липопротеина ниске густине (LDL) и маркере оксидативног стреса, као што је малондиалдехид (MDA). У прилог томе говоре и резултати истраживања у којем је након 8 недеља третмана лираглутидом примећено смањено излучивање маркера оксидације ДНК, 8-хидрокси-2'-деокси гуанозина (8-OH-dG) у урину. Са друге стране, истраживање спроведено од стране *Sivalingam*-а није успело да покаже смањење нивоа другог маркера оксидације ДНК, 8-оксо-7,8-дихидро-2'-деокси гуанозина (8-oxodG), након 12 недеља третмана лираглутидом, чак и уз веће дозе (1,8 mg/дан). GLP-1 агонисти смањујући оксидативни стрес, кроз смањење циркулишућег нивоа MDA побољшавају кардиоваскуларну функцију изражену кроз побољшање укочености артерија и функције леве коморе.

Поред истраживања спроведених на хуманој популацији, примена животињских модела је пружио додатан увид у механизме деловања GLP-1 агониста повезаних са побољшањем кардиоваскуларног здравља. Дулаглутид побољшава митохондријску функцију у мишићима мишева са дијабетесом типа 2, док је лираглутид смањio оксидативни стрес у срцу старијих пацова путем IRS1/eNOS/PKG сигналног пута, што је показано кроз смањење ROS у пуној крви и нивоа срчаног супероксида и водоник пероксида и 3-нитротирозин позитивних протеина у срцу (104).

Утицај на митохондријалну функцију нису ограничена само на срце, већ и у другим органима. Па тако, третман ексенатидом је спречио повећање интрацелуларне производње ROS и на тај начин је показао користи у бубрезима, одржавајући митохондријални потенцијал мембране и спречавајући апоптозу у бубрежним тубуларним епителним ћелијама. Додатно, семаглутид је побољшао митохондријску структуру у јетри мишева са неалкохолном масном болешћу јетре, док су слични ефекти забележени у мозгу и другим ткивима. Ови налази потврђују да GLP-1 агонисти могу имати свеобухватан утицај на смањење оксидативног стреса, побољшање

митохондријалних функција и кардиоваскуларног здравља, што чини перспективним леком за лечење дијабетеса типа 2 и превенцију кардиоваскуларних болести (68).

Још једна студија показује да лираглутид смањује оксидативни стрес тако што смањује апоптозу и нормализује дисбаланс митохондријске динамике. Такође, смањује накупљање алфа-синуклеина, смањује липидну пероксидацију и инхибира митохондријске аутофагијске сигналне путеве. Истраживање је показало да ексенатид повећава антиоксидативни капацитет људских моноцита/макрофага смањењем експресије NADPH оксидазе која производи ROS, повећавајући активност SOD и глутатион пероксидазе, а истовремено смањује ниво ROS и MDA. Лираглутид је такође смањио ниво MDA, MCP-1 и NF- κ B, а повећан ниво SOD у серуму, показујује да смањује оксидативни стрес и инхибира инфламаторни одговор (105).

На основу свега наведеног можемо закључити да GLP-1 агонисти поседују значајан потенцијал који није ограничен само на побољшање контроле гликемије, већ и на значајну заштиту од оксидативног стреса и инфламације у кардиоваскуларном систему. Ови лекови делују путем смањења производње ROS, активације антиоксидативних ензима и побољшања митохондријских функција, што доводи до побољшања кардиоваскуларних и метаболичких исхода. Истраживања су показала да GLP-1 агонисти имају потенцијал за терапију дијабетеса типа 2, али и као лекови за превенцију и лечење метаболичких и кардиоваскуларних болести, што чини њихову примену перспективном у савременом лечењу пацијената са овим обољењима.

II

ЦИЉЕВИ И

ХИПОТЕЗЕ

СТУДИЈЕ

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

Узимајући у обзир претходно наведене чињенице циљеви истраживања су следећи:

2.1 ОПШТИ ЦИЉ

Испитивање и компарација различитих лекова из групе GLP-1 агониста на кардиоваскуларни систем пацова са метаболичким синдромом

2.2 СПЕЦИФИЧНИ ЦИЉЕВИ

1. Испитати и упоредити утицај шестонедељне примене различитих агониста рецептора за GLP-1 на патогенезу метаболичког синдрома.
2. Испитати ефекте различитих агониста рецептора за GLP-1 на системске параметре оксидационог стреса пацова са метаболичким синдромом.
3. Евалуација и компарација ефеката хроничне примене различитих агониста рецептора за GLP-1 на исхемијско-реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом.
4. Хистолошка верификација ефекта шестонедељне примене различитих агониста рецептора за GLP-1 на морфолошке особине миокарда, панкреаса, јетре и аорте пацова код којих је индукован метаболички синдром

2.3 ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

1. Биохемијским и квантитативним анализама ће се потврдити повољан утицај шестонедељне примене агониста рецептора за GLP-1 на патогенезу метаболичког синдрома.
2. Агонисти рецептора за GLP-1 ће након шестонедељне примене показати антиоксидациона својства код пацова са метаболичким синдромом.
3. Агонисти рецептора за GLP-1 ће показати кардиопротективне ефекте на исхемијско-реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом.
4. Хистолошким анализама ће се верификовати протективни ефекти агониста рецептора за GLP-1 код пацова са метаболичким синдромом.

III

МАТЕРИЈАЛ И

МЕТОДЕ

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Истраживање је спроведено као хронична, експериментална студија на анималном моделу и материјалу анималног порекла *in vivo* и *ex vivo*. Експериментални део протокола изведен је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, у Центру за претклиничка и функционална истраживања. Експерименталне процедуре спроведене у току овог истраживања су у складу са актима Директиве Европске уније о заштити животиња коришћених у експерименталне и друге научне сврхе 86/609/ЕЕЦ (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes* 86/609/ЕЕЦ) и принципа етике. Такође, протокол ове студије одобрио је Етички одбор за заштиту добробити експерименталних животиња Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу одлуком број 01-11876/4.

1 3.1 ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ

За истраживање су коришћени одрасли пацови, *Wistar Albino* соја, мушког пола, 4 недеље старости и телесне масе 150 ± 30 грама. Животиње су након транспорта са Војномедицинске академије у Београду, чуване у виваријуму у строго контролисаним лабораторијским условима. Температура у карантину и виваријуму одржавана је на 21 ± 2 степена, релативна влажност ваздуха на $50 \pm 10\%$, док је осветљеност подешена тако да експерименталне животиње буду током 12 часова на светлости, а током 12 часова у тами. Пацовима су вода и адекватна храна (у складу са експерименталним протоколом) били доступни *ad libitum*, тачније према потреби и у адекватној количини. На почетку истраживања, 55 пацова је било укључено у студију, међутим 5 пацова је искључено из студије јер су након апликације стрептозотоцина имале прениске или превисоке вредности гликемије, хипертензије и инсулина. Преосталих 50 пацова је било укључено у студију и насумично разврстано у пет група:

- Контролна група пацова са метаболичким синдромом којима је супкутано апликован физиолошки раствор (0,9 % NaCl) – MetC,
- Група пацова са метаболичким синдромом којима је супкутано апликован лираглутид у дози од 0,3 mg/kg једном дневно,
- Група пацова са метаболичким синдромом којима је супкутано апликован ексенатид у дози од 5 µg/kg једном дневно,
- Група пацова са метаболичким синдромом којима је супкутано апликован семаглутид у дози од 0,3 mg/kg једном дневно,
- Група пацова са метаболичким синдромом којима је супкутано апликован дулаглутид у дози од 1,5 mg/kg два пута недељно.

3.2 ИНДУКЦИЈА МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА СТРЕПТОЗОТОЦИНОМ

3.2.1 Стрептозотоцин

Стрептозотоцин (СТЗ) је природни алкилирајући агенс, хемијски класификован као нитрозоуреа. Изован је из бактерије *Streptomyces achromogenes*. СТЗ улази у ћелије путем глукозних транспортера 2 (GLUT2), који су експримирани у β-ћелијама панкреаса

и изазива оштећење ДНК, што резултира ћелијском смрћу или апоптозом. Када се апликује животињама, као што су мишеви и пацови, може довести до низа клиничких манифестација које oponaшају симптоме дијабетеса код људи, попут хипергликемије, полидипсије, полиурије, кетоацидозе, као и оштећење бубрега, срца, крвних судова и других органа. Управо због свог токсичног деловања на бета ћелије панкреас и последичних симптома, СТЗ се често користи за индуковање дијабетеса и метаболичког синдрома код лабораторијских животиња (106,107).

3.2.2 Успостављање експерименталног модела метаболичког синдрома код пацова

Узимајући у обзир да метаболички синдром, подразумева гојазност уз хипертензију и инсулинску резистенцију, за индукцију смо користили модел заснован на апликовању мале дозе СТЗ након конзумирања хране са великим уделом масти. Ово је уједно и један од најзаступљенијих експерименталних модела метаболичког синдрома, јер се као последица деструкције бета ћелија панкреаса и наведене исхране, код животиња изазива хипергликемија праћена хиперинсулинемијом и гојазношћу. Према сазнањима из претходних истраживања и подацима из доступних студија, индукција метаболичког синдрома код пацова зависи од дозе СТЗ. Веће дозе су резервисане за индукцију дијабетес мелитуса (60-80 mg/kg) јер ће се бета ћелије панкреаса у потпуности разорити, док за изазивање МетС доза стрептозотоцина се креће у опсегу од 20 mg/kg до 35 mg/kg (106,107). Узимајући у обзир све наведено, у нашој студији метаболички синдром је изазван код пацова који су првобитно током 4 недеље конзумирали масну храну која је садржила 25% масти, 15% протеина, 51% скроба и 5% влакана. Након тога пацови су били подвргнути гладовању у трајању од 12 часова, а потом им је апликована интраперитонеална инјекција стрептозотоцина у дози од 25 mg/kg. Гликемија, инсулин и крвни притисак мерени су након 72 часа како би потврдили индукцију метаболичког синдрома. За студију су били селектовани пацови који су задовољавали одређене критеријуме, укључујући ниво гликемије на нивоу преко 7 mmol/L, ниво инсулина на нивоу изнад 6 mmol/L и крвни притисак преко 130/90 mmHg, што имплицира успешно индуковање метаболичког синдрома (108).

3.3 ХРОНИЧНА ПРИМЕНА GLP-1 АГОНИСТА: ИСПИТИВАЊЕ ВАРИЈАБЛЕ

Након потврде о изазваном метаболичком синдрому све животиње су, као што је већ и наведено, насумично разврстано у пет група које су током 6 недеља биле третиране физиолошким раствором (контролна група) или леком (лираглутид, ексенатид, семаглутид или дулаглутид) у одговарајућој дози.

Током третмана пацова GLP-1 агонистима, праћење одређених параметара било је од значаја за процену болести, али и ефикасности и сигурности терапије.

3.3.1 Праћење вредност телесне масе, глукозе и инсулина у крви пацова

Телесна маса и дужина пацова је мерена након потврде MetC-а пре почетка апликовања лекова, као и сваке недеље током трајања експерименталног протокола. Такође, праћен је и индекс телесне масе (енгл. *body mass index* - BMI) који се прорачунавао на основу следеће формуле:

$$\text{BMI} = \frac{\text{телесна маса}}{\text{телесна дужина}^2}$$

Током хроничног протокола, вредност глукозе у крви одређивана је код свих животиња након дванаесточасовног гладовања, једном недељно помоћу глукометра Ассу-Чек (*Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA*) са припадајућим тракама. На крају експерименталног протокола (непосредно пре жртвовања) изведен је OGTT након дванаесточасовног гладовања када је поред вредности глукозе мерена и вредност инсулина у крви. Узорак крви за поменуте анализе узет је пункцијом репне вене. Одмах након одређивања вредности глукозе наше (0), свим животињама је **глукоза у дози од 2 g/kg телесне тежине** примењивана помоћу оралне сонде. Вредност глукозе је одређивана у 0., 30., 60., 120. и 180. минути, док су вредности инсулина мерени у 0. и 180. минути OGTT-а коришћењем ELISA (енгл. *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) методе и одговарајућих сетова.

3.3.2 Одређивање вредности крвног притиска и срчане фреквенце

Као што је напоменуто у претходном делу, MetC одликује и хипертензија. Управо је ово разлог из ког је у нашој студији мерен крвни притисак (КП), тачније испитивани су фармаколошки ефекти GLP-1 агониста на систолни и дијастолни крвни притисак, али и срчану фреквенцу.

Крвни притисак и срчана фреквенца су мерени пре почетка хроничног третмана, у трећој и шестој недељи (један дан пре жртвовања). Како протокол мерења крвног притиска код експерименталних животиња коришћена је **tail-cuff** метода (*Rat Tail Cuff Method Blood Pressure Systems (MRBP-R), IITC Life Science Inc., Los Angeles, CA, USA*). Манжетна, у којој се налази сензор, се поставља на реп животиње помоћу којег се системски одређује промена притиска волумена унутар крвног суда као и срчана фреквенца. Животиње су три дана пре мерења биле смештане у комору система на око 30 минута, како би се избегли могући утицаји стреса на резултате мерења крвног притиска. Како би се обезбедила тачност и поузданост резултата, узимана је просечна вредност шест измерених вредности крвног притиска.

3.3.3 Праћење in vivo функције срца: ехокардиографија

Ехокардиографија је неинвазивна дијагностичка метода која се користи за визуализацију структуре и функције срца. Ова метода омогућава процену дебљине зидова срца, величине срчаних комора и функције срчаних залистак. У случају метаболичког синдрома, ехокардиографија је од великог значаја јер помаже у откривању срчаних компликација које често прате ову болест, као што су хипертрофија леве коморе и систолна или дијастолна дисфункција.

Како би проценили ефекте примене различитих агониста GLP-1 рецептора, али и развој промена узрокованих метаболичким синдромом, ултразвук је спроведен у свим групама животиња у последњој недељи протокола. За потребе ехокардиографије коришћен је ултразвучни уређај *Hewlett-Packard Sonos 5500 (Andover, MA, USA)* за мале животиње, опремљен сондом од 15.0 MHz. Пре извођења процедуре, пацови су анестезирани комбинацијом 50 mg/kg кетамина (100 mg/mL; *Ketaset, Fort Dodge, Fort Dodge, IA*) и 10 mg/kg ксилазина (100 mg/mL; *Anased, Lloyd Laboratories, Shenandoah, IA*) у виду интраперитонеалне инјекције. Ради лакшег и јаснијег уочавања задњег зида леве коморе и септума срца, трансторакална ехокардиографија је спроведена у 2D режиму рада, док је сонда постављена перпендикуларно. Након проналажења адекватне позиције сонде, фотографије су направљене у М-режиму рада.

Параметри које смо мерили и коју смо нам били од значаја су:

- **IVSd** - дебелина зида интервентрикуларног септума на крају дијастоле (енгл. *interventricular septal wall thickness at end diastole*);
- **LVIDd** - унутрашња димензија леве коморе на крају дијастоле (енгл. *left ventricle internal dimension at end diastole*);
- **LVPWd** - дебелина задњег зида леве коморе на крају дијастоле (енгл. *left ventricle posterior wall thickness at end diastole*);
- **IVSs** - дебелина зида интервентрикуларног септума на крају систоле (енгл. *interventricular septal wall thickness at end systole*);
- **LVIDs** - унутрашња димензија леве коморе на крају систоле (енгл. *left ventricle internal dimension at end systole*);
- **LVPWs** - дебелина задњег зида леве коморе на крају систоле (енгл. *left ventricle posterior wall thickness at end systole*);
- **FS** - проценат фракционог скраћења (енгл. *fractional shortening*);
- **EF** - ејекциона фракција (енгл. *ejection fraction*).

За израчунавање процента фракционог скраћења коришћена је следећа формула:

$$FS = 100 \times (LVIDd - LVIDs) / LVIDd$$

Док је за израчунавање ејекционе фракције коришћена *Teicholz* формула:

$$EF = 100 \times (LVEDV - LVESV) / LVEDV$$

$$LVESV = (7 \times LVIDs) / (2.4 \times LVIDs)$$

$$LVEDV = (7 \times LVIDd) / (2.4 \times LVIDd)$$

LVEDV- енддијастолни волумен леве коморе; **LVESV**- ендсistolни волумен леве коморе.

3.4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ПРОТОКОЛ ИСКЕМИЈЕ И РЕПЕРФУЗИЈЕ СРЦА ПО ЛАНГЕНДОРФУ

Лангендорфова метода исхемије и реперфузије срца представља једну од основних техника у кардиолошким истраживањима, која омогућава детаљно проучавање срчане физиологије и патофизиологије у изолованом срцу. Ову методу је први развио и описао Оскар Лангендорф (*Oscar Langendorff*) крајем 19. века, тачније 1895. године.

Лангендорф, немачки физиолог, је развио ову методу као начин за одржавање изолованог срца у функционалном стању изван организма. Његов рад је поставио темеље за многе касније студије које су се бавиле срчаном физиологијом, фармакологијом и

патофизиологијом. Лангендорф је открио да је могуће одржавати срчану активност тако што се срце перфузира аортом уз помоћ раствора богатог кисеоником, што омогућава нормалан проток крви кроз коронарне артерије.

Првобитно, ова метода је коришћена за проучавање основних принципа срчане функције, као што су ритам, сила контракције и утицај различитих хемијских супстанци на срце. Касније, Лангендорфова метода је модификована и унапређена како би се омогућила сложенија истраживања, укључујући проучавање механизма исхемијско-реперфузионог оштећења срца.

Лангендорфова метода је почела широко да се користи у истраживањима средином 20. века, када је постала стандардна техника у лабораторијама за кардиоваскуларна истраживања. Њена примена омогућава истраживачима да детаљно проучавају физиолошке и патофизиолошке процесе у срцу у строго контролисаним условима. Ово је посебно значајно за проучавање механизма оштећења проузрокованих исхемијом (смањен проток крви) и последичном реперфузијом (обнављање протока крви), што је кључно за разумевање инфаркта и развој терапија за њихово лечење.

Основни принцип Лангендорфове методе је перфузија изолованог срца физиолошким раствором кроз аорту. Овај раствор садржи све потребне хранљиве материје и гасове (нарочито кисеоник), чиме се омогућава нормално функционисање срца. Исхемијски период се индукуван тако што се перфузија прекида на одређено време, након чега следи период реперфузије када се перфузија поново успоставља. Ова метода омогућава истраживање различитих аспеката срчане физиологије и патофизиологије у изолованом систему, без утицаја системских фактора присутних у живом организму (109–111).

У нашем истраживању *ex vivo* протокол је спроведен на Лангендорфовом апарату, (Experimetria Ltd, 1062 Будимпешта, Мађарска). Апарат се састоји од две вертикалне постављене стаклене цеви, где је цев мањег пречника постављена унутар веће. Између ових цеви протиче вода загрејана на физиолошку температуру од 37 °C. Температура се регулише помоћу воденог купатила које загрева цео систем. За перфузију срца се користи комплексан физиолошки раствор (*Krebs-Henseleit*), који је по саставу сличан екстрацелуларној течности и чији састав чине:

- натријум хлорид - (NaCl – 118 mmol/L),
- калијум хлорид - (KCl – 4,7 mmol/L),
- магнезијум сулфата - ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,66 mmol/L),
- калијум дихидроген фосфат - ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 1,18 mmol/L),
- натријум бикарбонат - (NaHCO_3 – 24,88 mmol/L),
- глукоза - ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \times \text{H}_2\text{O}$ – 5,5 mmol/L),
- калцијум хлорид - (CaCl_2 – 2,52 mmol/L).

pH вредност раствора износи 7,4

Раствор се гасира у резервоару, али и у целом систему мешавином O_2 и CO_2 у односу 95:5% и убацује у мању цев под негативним притиском која се завршава канилом на коју се прикачи изоловано срце пацова.

Перманентно праћење функције миокарда, али и осталих параметара се врши путем три сензора који су повезани са рачунаром на који је инсталиран адекватни софтвер (*Spel Advanced HaemoSys v3.24*). Први сензор (BS4 73-0184) се кроз леву преткомору убацује у леву комору, има балон на крају и омогућава регистровање притисака у левој комори. Други сензор се налази директно на канили кроз коју протиче

раствор и омогућава мерење притиска у аорти. Трећи сензор је позиционарн у стакленој комори и задужен је за мерење температуре срца (109).

Сензори омогућавају праћење следећих параметара:

- **dp/dt max** – максимална стопа промене притиска у левој комори, изражена у mmHg/s;
- **dp/dt min** – минимална стопа промене притиска у левој комори, изражена у mmHg/s;
- **SLVP** – систолни притисак у левој комори, изражена у mmHg;
- **DLVP** – дијастолни притисак у левој комори изражена у mmHg;
- **HR** – фреквенца рада срца, која се изражава као број откуцаја по минути (енгл. *beats per minute*, bpm).
- Коронарни проток (CF) је мерен флоуметријски (енгл. *flowmetrically*) и изражава се у mL коронарног венског ефлуента у минути (ml/min).

Након анестезирања комбинацијом кетамин/ксилазин (100 mg/kg:10 mg/kg) у виду интраперитонеалне инјекције, животиње су жртвоване трансцервикалном дислокацијом. Како би се изоловало срце, абдомена се хируршки отварао пресецањем дијафрагме, а грудни кош се отварао дуж мамиларне линије. Након тога секао се перикард и сви крвни судови базе срца. Након што се срце изоловало из грудног коша, стављано је у хладан физиолошки раствор (-4°C) чиме се метаболички процеси минимизирају и импровизују тзв. „физиолошка клешта”. По стављању органа у раствор врши се тупа препарација срца, уклањем делова срчаног ткива који скривају асценденту аорту и издвајање исте како би се кроз њу вршила ретроградна перфузија. Даље, срце се качило на претходно поменути канилу апарата, отварала се лева преткомора, прокидали су се митрални залиски и сензор се уводио у леву комору. Време од почетка хируршке процедуре до постављања срца на канилу, било је мање од 5 минута јер се тиме задржава виталност срца и избегавају потенцијална оштећења миокарда.

У нашем истраживању, како би изазвали ИР повреду, коришћен је протокол који подразумева 30 минута глобалне исхемија након које следи 60 минута реперфузије. Првенствено, срце треба да буде у стабилном стању, што подразумева непромењене параметре кардиодинамике и вредности коронарног протока након више узастопних мерења. По постизању стабилизације, евидентирали су се претходно споменути срчани параметри и сакупљао се венски ефлуент за одређивање параметара оксидационог стреса. Након тога изазивала се глобална исхемија у трајању од 30 минута која подразумева потпуни прекид коронарног протока. Период реперфузије подразумевао је поново успостављање протока Krebs-Henseleit-овог раствора кроз срца у трајању од 90 минута. Тачке од интереса, у којима смо пратили исте параметре, као и након стабилизације су: 1, 3, 5, 10, 15, 30, 45. и 60. минут реперфузије. Све групе животиња су биле изложене овом протоколу на Langendorff-овом.

3.5 ОДРЕЂИВАЊЕ ПАРАМЕТАРА РЕДОКС СТАТУСА

3.5.1 Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Индекс липидне пероксидације је одређиван као TBARS (енгл. *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* TBARS) у узорцима плазме и венског коронарног венског ефлуента. Индиректним мерењем, одређиване су нивои реактивних продуката реакције липидне пероксидације са тиобарбитурном киселином.

Протокол за одређивање нивоа TBARS у коронарном венском ефлуенту подразумевао је да се узима се 0,8 ml узрока и 0,2 ml 1% 2-тиобарбитурне киселине (TBA) и пипетира у епрувету у којој се налази 0,05 NaOH. Потом су се узорци 15 минута инкубирали у на 100 °C у воденом купатилу. Узорци су се мерили спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=530$ nm након претходне адаптације на собној температури. Као слепа проба користио се *Krebs Henseleit*-ов раствор у истој количини као и узорак.

Протокол за одређивање нивоа TBARS у плазми подразумевао је да се у епрувети помеша 0,8 ml плазме и 0,4 ml 28% трихлорсирћетне киселине (TCA) и остави 15 минута на леду, након чега се узорак центрифугира на 6000 rpm у трајању од 15 минута. Након тога се издваја 0,8 ml супернатанта и додаје 0,2 ml 1% TBA а даљи поступак је исти као и за коронарни венски ефлуент, изузев следеће пробе за чију сврху је коришћена дестилована вода (112,113).

1 Концентрација TBARS у коронарном венском ефлуенту, али и плазми израчунава се на основу следеће једначине:

$$\mu\text{mol TBARS/ml плазма} = \Delta A (A_y - A_c) / 1,56 \times 1,25$$

ΔA – финална апсорбанца

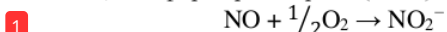
A_y – апсорбанца узорка

A_c – апсорбанца следеће пробе

1,56 и 1,25 – корекциони фактори коришћени за овај есеј

3.5.2 Одређивање нитрита (NO_2^-)

Мерење нивоа ослобођених нитрита у плазми и коронарном венском ефлуенту је репрезентативна метода за индиректно одређивање азот монооксида (NO). У реакцији са молекуларним кисеоником, NO формира нитрите (NO_2^-) према следећој реакцији:



1 Протокол за одређивање нивоа нитрита у коронарном венском ефлуенту: У епрувету је додавано 1 ml коронарног венског ефлуента, 250 μl Griess-овог реагенса, који је припремљен непосредно пре аналитичког одређивања, и 125 μl амонијачног пуфера (pH = 9.0), који су чинили натријум тетраборат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) и амонијум хлорид (NH_4Cl). Као слепа проба коришћен је 1 ml *Krebs-Henseleit*-овог раствора.

Протокол за одређивање нивоа нитрита у плазми: У епрувету је пипетирано 0,1 ml 3M перхлорне киселине, 0,4 ml 20 mM етилендиаминтетраацетне киселине (EDTA) и 0,2 ml плазме. Узорци су држани на леду 15 минута, након чега су центрифугирани 15 минута при брзини од 6000 rpm. Затим је преципитат ресуспендован са 220 μl калијум карбоната, а затим је из добијеног узорка пипетирано 200 μl и мешано са 250 μl Griess-овог реагенса и 125 μl пуфера за NO у новој епрувети. Као слепа проба је коришћена дестилована вода (114,115).

Калибрациона крива:

За утврђивање концентрације ослобођеног нитрита у узорцима (коронарног венског ефлуента и плазме), израђена је калибрациона крива додавањем одређених концентрација NaNO_2 у 1 ml *Krebs-Henseleit*-овог раствора. Након 10 минута, када је дошло до стабилизације боје, апсорбанца је измерена на таласној дужини од $\lambda = 550 \text{ nm}$. Концентрација ослобођених нитрита је одређена на основу разлике апсорбанци узорка и контроле,

$$\text{nmol NO}_2/\text{ml плазма} = \Delta A (AU-As)/F$$

ΔA – коначна (апсорбанца

A_u – апсорбанца узорка

A_s – апсорбанца следеће пробе

F – аритметичка средина добијених стандарда

израчунавање фактора (F) коришћена је следећа једначина:

(екстинкција стандарда – екстинкција следеће пробе) / концентрација NaNO_2 у стандардима

3.5.3 Одређивање супероксид анјон радикала (O_2^-)

Мерење концентрације супероксид анјон радикала у плазми и коронарном венском ефлуенту се базира на способности O_2^- да реагује са нитротетразолијумом плавим (енгл. *Nitro Blue Tetrazolium* - NBT) и формира нитроформазау плаво (енгл. *nitro formazon blue*). Протокол за одређивање концентрације O_2^- у плазми и ефлуенту је сличан, разлика је у таласној дужини приликом мерења апсорбанце и износи $\lambda=530 \text{ nm}$ за плазму и $\lambda=550 \text{ nm}$ за ефлуент. У епрувету је пипетирано 50 μl коронарног венског ефлуента или плазме и 950 μl есејне смеше (50 mM TRIS-HCl пуфера, 0,1 mM EDTA, 0,1 mg/ml желатина и 0,1 mM NBT). Као слепа проба коришћена је дестилована вода у истој количини као и узорак. Апсорбанца је мерена три пута на 1 минут, уз претходно мешање на претходно споменути таласним дужинама а у складу са врстом узорка (115).

Концентрација ослобођеног супероксид анјон радикала се израчунава на основу једначина:

$$\Delta A_u = A_{2u} - A_{1u} \text{ (за узорак)}$$

$$\Delta A_s = A_{2s} - A_{1s} \text{ (за слепог пробу)}$$

$$\Delta A = \Delta A_u - \Delta A_s$$

$$\text{nmol O}_2^-/\text{mL ефлуента} = \Delta A / 0,015 \times 1/0,05$$

3.5.4 Одређивање водоник пероксида (H_2O_2)

Квантификовање водоник пероксида подразумева његову реакцију оксидације са фенол црвеним (енгл. *phenol red*) коју катализује пероксидаза из рена (енгл. *Horseradish Peroxidase* - HRP). За одређивање концентрације водоник пероксида коришћен је свеже припремљен растов фенол црвеног при чему је у епрувету пипетирано 0,8 ml раств¹а и 0,2 ml узорка, након чега је додато 10 μl (1:20) HRP. Инкубација је спроведена на собној температури у трајању од 10 минута након чега је мерена апсорбанца на $\lambda=550 \text{ nm}$. За узорак плазме као слепа проба је коришћена дестилована вода, а за коронарни венски ефлуент раствор *Krebs-Henseleit* (113,116).

1

Количина H_2O_2 у узорцима израчуната је према следећој једначини:

$$\Delta A = A_u - A_s$$

$$F = \Delta A / \text{nmol H}_2\text{O}_2 / \text{cuv}$$

$$\text{nmol H}_2\text{O}_2 / \text{ml плазма} = \Delta A / F$$

F је фактор апсорбанце/nmol H_2O_2

ΔA – коначна апсорбанца

A_u – апсорбанца узорка

A_s – апсорбанца слепог проб

3.5.5 Одређивање супероксид дисмутазе (SOD)

Супероксид дисмутаза (SOD) је ензим који игра кључну улогу у заштити ћелија од оштећења узрокованих реактивним кисеониковим врстама, посебно супероксидним анионом (O_2^-). Супероксид дисмутаза катализује дисмутацију супероксидног аниона у водоник пероксид (H_2O_2) и молекуларни кисеоник (O_2). Мерење активности SOD спровођено је помоћу епинефринске методе, по Beutler-у, која се базира на праћењу брзине аутооксидације у алкалној средини, која зависи управо од O_2^- . У епрувету је додато 100 μL лизата и 1 mL карбонатног пуфера а након тога још 100 μL епинефрина. Активност SOD је мерена спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=470 \text{ nm}$ (117,118).

3.5.6 Одређивање редукованог глутатиона (GSH)

Редуковани глутатион (GSH) је трипептид састављен од аминокиселина глутамата, цистеина и глицина. Има улогу у одржавању ћелијске хомеостазе и заштити ћелија од оксидационог стреса. Мерење активности GSH у еритроцитима је одређивано по методи Beutler-а која подразумева оксидацију глутатиона GSH помоћу 5,5-дителио-бис-6,2- нитробензоеве киселине (DTNB). У 50 μL лизираних еритроцита додато је 200 μL 0,1% раствора етилендиаминтетраацетата, као и 385 μL преципитационог пуфера. Након инкубације на леду у трајању од 15 минута и центрифугирања од 10 минута при брзини од 4000 rpm, добијен је екстракт. У епрувете које садрже 300 μL овог екстракта, додато је 750 μL натријум дифосфата и 100 μL 5,5-дителио-бис-6,2-нитробензоеве киселине. По завршетку 10-минутне инкубације, апсорбација узорка је измерена на таласној дужини од 412 nm, док је као слепа проба коришћен раствор NaCL. (119).

3.5.7 Одређивање каталазе (CAT)

Каталаза је ензим који разлаже водоник-пероксид (H_2O_2) у воду и кисеоник, чиме штити ћелије од оксидационог оштећења. Овај ензим је посебно значајан у јетри и еритроцитима, где помаже у детоксикацији штетних супстанци. Концентрација наведеног ензима је одређивана у лизату еритроцита. Лизат је разблажен са водом (1:7) и етанолом (0,6:1). Даља процедура подразумевала је пипетирање 100 μL узорка (разблаженог лизата), 50 μL каталаза пуфера и 1 ml 10 mM водоник пероксида у епрувету. Апсорбанца овако добијене смеше је мерена спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=360 \text{ nm}$ (120).

3.6 БИОХЕМИЈСКЕ АНАЛИЗЕ ЛИПИДНОГ СТАТУСА

Обзиром да је једна од основних особености оболих од МетС гојазност, често су параметри липида повишени. Управо из овог разлога, наша студија је подразумевала и одређивање укупног холестерола и триглицерида у крви. Крв је узимана приликом припреме животиње за *ex vivo* протокол на Лангенхорфовом апарату.

Анализе су спроведене на аутоматизованом биохемијском анализатору Dimension Xpand (Siemens, IL, САД), применом спектрофотометријских техника и комерцијално доступних реагенсних комплета (Siemens Healthcare Diagnostics, Frimley, Camberley, Surrey, УК).

3.7 ПАТОХИСТОЛОШКА АНАЛИЗА

Након завршеног експерименталног протокола, изоловани су срца, јетра, бубрези, панкреас и аорта. Након изоловања је уследила фиксација ткивних узорак у 4% раствору неутралног параформалдехида током 24 сата. Након фиксације, узорци су дехидрирани у растућим концентрацијама етанола (70%, 96% и 100%), просветљени у ксилолу и уграђени у парафинске блокове Histowax® (Histolab Product AB, Гетеборг, Шведска). Ткивни пресеци свих органа од интереса, дебљине 5 μm , су сечени на ротационалном микротому (RM 2125RT Leica Microsystems, Wetzlar, Немачка).

3.7.1 Хематоксилин/Еозин бојење

Хематоксилин/еозин (H/E) методу смо користили за визуализацију ткивних структура и верификацију морфолошких промена на органима од интереса. Поступак бојења подразумева депарафинизацијом узорак у ксилолу, рехидрацију узорак у опадајућим концентрацијама алкохола (100%, 96% и 70%) и испирање у води. Потом се пресеци ткива потапају у раствор Мајер-овог хематоксилином, затим се поново испирају у води и поново урањају у раствор еозина. Након тога, узорци се поново потапају у растуће концентрације алкохола (у 96% и у 100%), просветљују у ксилолу и монтирају се покривна стакла коришћењем DPX. Након завршене процедуре бојења, узорци ткива се оставе на собној температури да се осуше преко ноћи. Сlike ткивних пресека су добијене коришћењем дигиталне камере повезане са *Olympus BX51* микроскопом. За морфометријску анализу (површина попречног пресека кардиомиоцита и дебљина зида аорте), користили смо калибрисани *Axiovision* софтвер (Zeiss, САД) (121,122).

3.7.2 Picrosirius red бојење

Picrosirius red бојење користи се за детекцију колагених влакана у органима од интереса. Овом методом добијају се црвено обојена колагена влакна, мишићна влакна и цитоплазма се боје жуто а једра црном бојом. Након депарафинизације и рехидрације ткивних узорак срца, плочице се урањају у раствор *Weigerts*-овог хематоксилина, потом се испирају у дестилованој води и поново урањају у раствор *Picro Sirius Red*-а. Након тога узорци се испирају у дестилованој води и урањају у 2% раствор глацијалне сирћетне киселине. Затим је уследила дехидратација ткивних пресека урањањем плочица у растуће концентрације алкохола, просветљивње у ксилолу и монтирање покривних

стакала на плочице коришћењем DPX-а. Ткивни узорци су остављани да се суше преко ноћи на собној температури након чега је уследила морфометријска анализа садржаја колагених влакана коришћењем програма за анализу слике *Image ProPlus* (*Media Cybernetics*) (121,122).

3.8 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

Статистичка обрада података из експерименталних протокола спроведена је коришћењем IBM SPSS 20.0 за Windows. За утврђивање нормалности расподеле података коришћени су *Kolmogorov-Smirnov* и *Shapiro-Wilk* тестови, као и хистограм и *normal QQ plot*. Подаци су приказани као средња вредност $\pm$ стандардна девијација (SD). За креирање графикона и табела употребљен је *Microsoft Excel*.

За процену разлика између параметара примењени су различити статистички тестови, у зависности од типа података: *Mann-Whitney* тест, Студентов т-тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, као и једнофакторска (*one-way ANOVA*) и двофакторска анализа варијансе (*two-way ANOVA*). У случајевима где је утврђена статистички значајна разлика између група, *Bonferroni* тест је коришћен за утврђивање специфичних разлика. Вредност $p < 0,05$ сматрана је статистички значајном, док је $p < 0,01$ указивала на високу статистичку значајност.

За опис параметара коришћени су фреквенција, проценти, средња вредност узорака, медијана узорака, стандардна девијација узорака, ранг и 95% интервали поверења.

IV

РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ТЕЛЕСНУ ТЕЖИНУ И ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ ТЕЖИНЕ

Током истраживања, забележен је статистички значајан пораст телесне тежине у свим групама након треће и шесте недеље експерименталног протокола, осим у групи која је третирана семаглутидом, где није утврђено статистички значајно повећање између испитиваних временских тачака (График 1 и График 2). Такође на Графику 2, приказана је телесна тежина и њен пораст на недељном нивоу. У трећој недељи експеримента уочавамо статистички веће телесне тежине у МетС групи у односу на групе третиране ексенатидом, дулаглутидом и семаглутидом, док са друге стране уочавамо ниже вредности у групи третираној семаглутидо у поређењу са осталим третираним групама. На крају експерименталног протокола резултати указују на више вредности телесне тежине у МетС групи у односу на све третиране групе, док су вредности у семаглутид групи ниже у односу на остале третиране групе.

На Графику 3, где је приказан BMI, уочавамо мало другачију статистичку значајност у односу на резултате телесне тежине. У трећој недељи уочавају се више вредности BMI у МетС групи у односу на све третиране групе, изузев у лираглутид групи, док су ниже вредности у семаглутид групи у односу на групе третирана лираглутидом и ексенатидом и у трећој и шестој недељи. На крају протокола су више вредности у МетС групи у односу на све третиране групе.

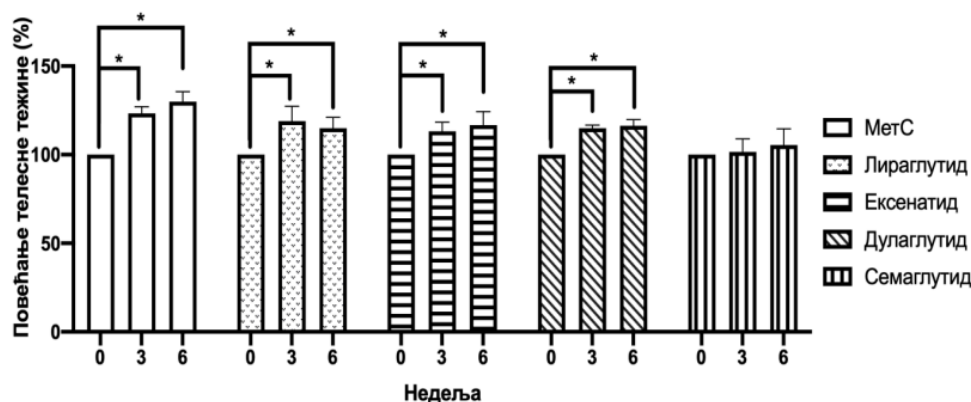


График 1. Повећање телесне тежине животиња изражено у процентима. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. * $p < 0,05$ Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

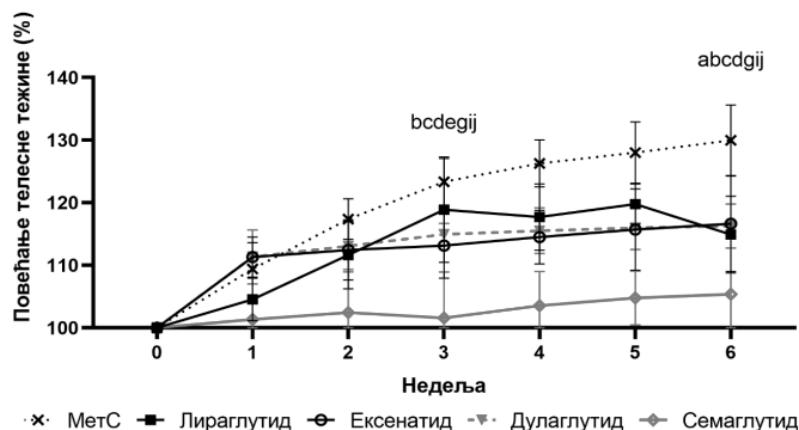


График 2. Повећање телесне тежине животиња изражено у процентима. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 1 – вредности измерене на крају прве недеље експеримента; 2 – вредности измерене на крају друге недеље експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 4 – вредности измерене на крају 4 недеље експеримента; 5 – вредности измерене на крају 5 недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. * $p < 0,05$ Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

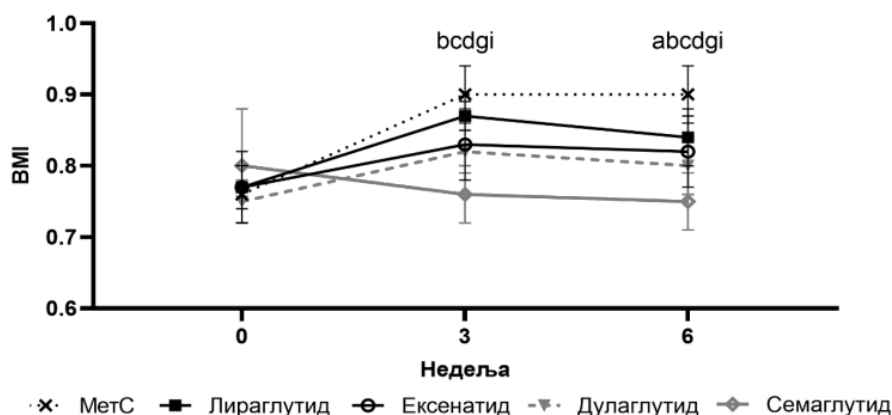


График 3. Приказ BMI током шест недеља трајања експеримента - Вредности измерене на почетку експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. * $p < 0,05$ Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.2 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ГЛИКЕМИЈУ

Вредности гликемије су одређиване на крају сваке недеље експерименталног протокола (График 4), али због лакшег праћења и приказа одредили смо три тачке од интереса које су коришћене за поређење: на почетку, као и у трећој и шестој недељи експерименталног протокола.

На Графику 5 приказане су вредности нивоа гликемије, и то на Графику 5А приказана је статистичка значајност за вредности нивоа глукозе унутар групе, док су на Графику 5Б приказане статистички значајне разлике између испитиваних група. Вредности гликемије код нетретиране групе животиња (МетС група) одржале су сличан ниво током шестонедељног експерименталног протокола, док се код свих група третираних агонистима GLP-1R уочава статистички значајан хипогликемијски ефекат. Тренд пада вредности гликемија је у корелацији са дужином примене лекова код свих третираних група (График 5А).

Анализом нивоа глукозе у крви код испитиваних група уочен је статистички значајан хипогликемијски ефекат након примене агониста GLP-1R. Иако на почетку протокола (у тачки 0) нису уочене статистичке разлике између група, вредности гликемије измерене у трећој и шестој недељи су значајно смањене у свим третираним групама у поређењу са МетС групом. Међутим, статистичке разлике нису уочене између група третираних различитим агонистима GLP-1R (График 5Б).

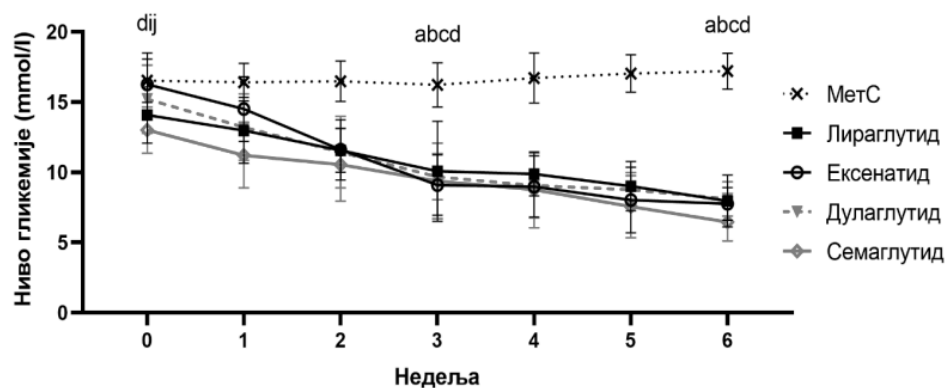


График 4. Вредности гликемије праћене током хроничног експерименталног протокола између испитиваних група. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 1 – вредности измерене на крају прве недеље експеримента; 2 – вредности измерене на крају друге недеље експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 4 – вредности измерене на крају четврте недеље експеримента; 5 – вредности измерене на крају пете недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

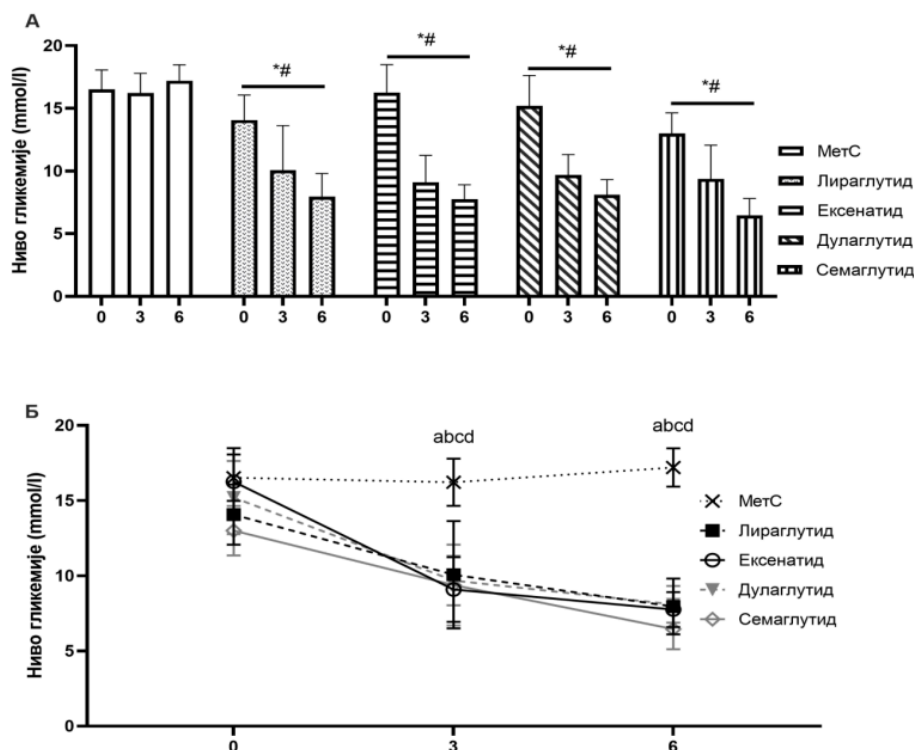


График 5. (А) Вредности гликемије праћене током хроничног експерименталног протокола унутар групе. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. * $p < 0,05$ 0 vs. 3; # $p < 0,05$ 0 vs. 6; $^s p < 0,05$ 3 vs. 6. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи (Б) Вредности гликемије праћене током хроничног експерименталног протокола између испитиваних група. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. $^a p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; $^b p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; $^c p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; $^d p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; $^e p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; $^f p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; $^g p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; $^h p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; $^i p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; $^j p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.3 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ТЕСТ ОПТЕРЕЋЕЊА ГЛУКОЗОМ

На Графику 6 су приказане вредности глукозе и инсулина мерене током теста оптерећења глукозом. Као што се јасно уочава на Графику 6А, вредности гликемије у МетС групи су значајно повишене у поређењу са осталим експерименталним групама у свим тачкама мерења (тј. у 0, 30, 60, 90, 120. и 180. минути). У свим експерименталним групама вредности нивоа глукозе у 0. и 180. минути биле су сличне, док су у МетС групи вредности гликемије у 180. минути биле повишене у односу на 0. минут, али без статистичке значајности.

На Графику 6Б приказане су вредности инсулина измерене у 0., као и у 180. минути ОГТ теста. У свим групама је уочен статистички значајно повишен ниво инсулина на крају теста у поређењу са нивоима у 0. минути. У МетС групи вредности инсулина су више у обе тачке од интересе у поређењу са третиранима групама.

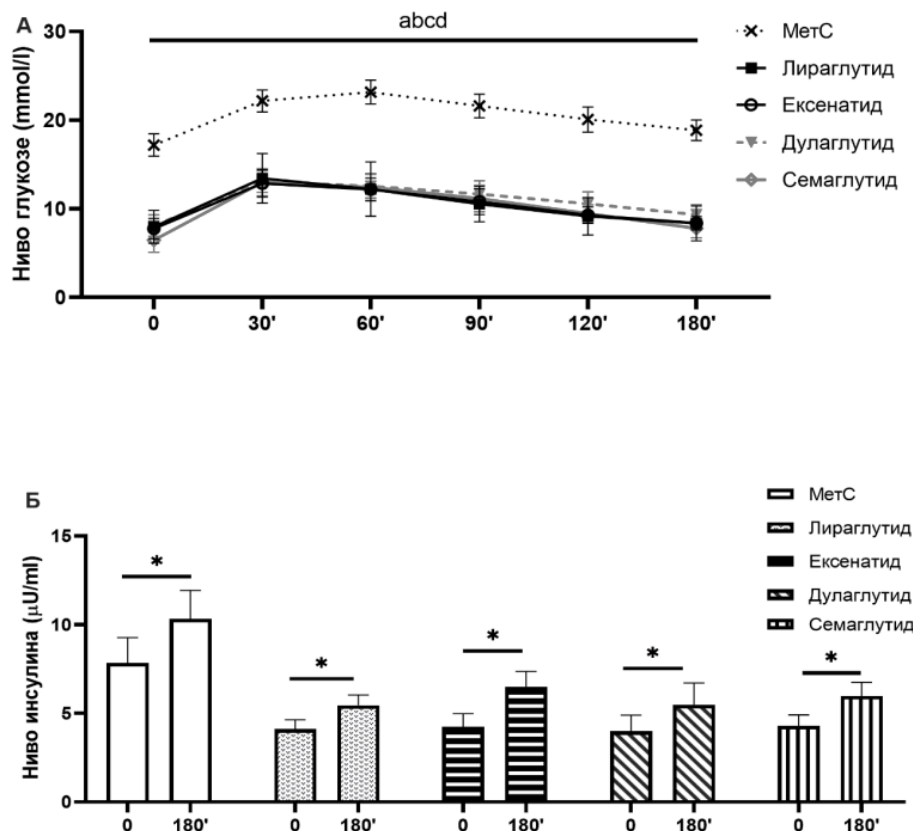


График 6. (А) Вредности глукозе у крви током теста оптерећења глукозом. Глицимија наше (означена као 0'), и нивои глукозе у 30', 60', 120' и 180' минути након уноса глукозе. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

(Б) Вредности инсулина у крви током теста оптерећења глукозом. Ниво инсулина пре уноса глукозе (означен као 0'), и нивои инсулина 180' минути након уноса глукозе. * $p < 0,05$. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.4 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ЛИПИДНИ СТАТУС

Липидни статус је процењиван на основу вредности укупног холестерола и триглицерида које су приказане на Графику 7.

Статистички значајно смањење вредности укупног холестерола у односу на MetC групу уочено је код група пацова третираних лираглутидом и семаглутидом. Такође, вредности укупног холестерола биле су значајно синжене код пацова третираних семаглутидом у односу на пацове третиране ексенатидом (График 7А). Са друге стране, ниво триглицерида је значајно снижен код свих пацова третираних лековима у односу на нетретирану групу пацова (MetC). Међутим, треба напоменути да су вредности триглицерида у ексенатид групи биле значајно више у поређењу са осталим групама у којима су пацовима апликовани агонисти GLP-1R (График 7Б).

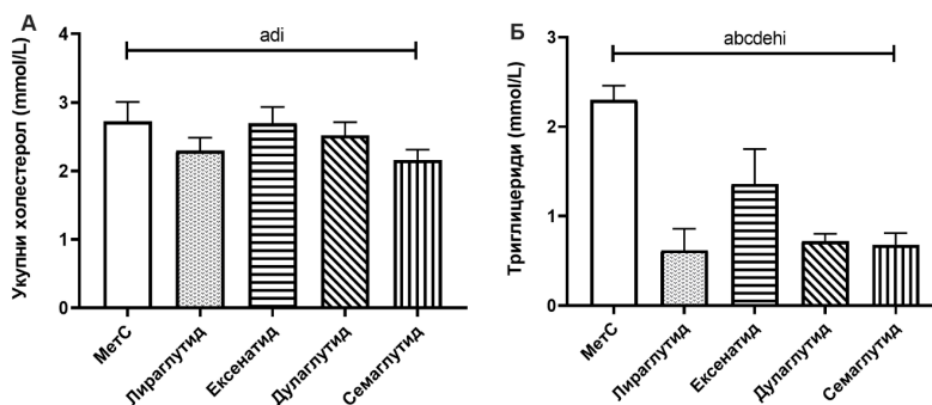


График 7. Вредности липидних параметра у експерименталним групама: (А) Укупни холестерол, (Б) Триглицериди. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.5 УТИЦАЈ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ПАРАМЕТРЕ СИСТЕМСКОГ ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА

Вредности прооксидационих маркера измерених у периферној венској крви у испитиваним групама приказане су на Графику 8. Резултати показују да није било статистички значајне разлике у ослобађању прооксидационих маркера TBARS, NO_2^- и H_2O_2 између експерименталних група и MetC групе. Са друге стране, шестонедељна примена лираглутида, ексенатида и семаглутида је статистички значајно смањила концентрацију O_2^- у односу на нетретирану групу животиња (График 8В).

Антиоксидациони параметри мерени у свим испитиваним групама на крају експерименталног протокола приказани су на Графику 9. Нивои супероксид дисмутазе су значајно повишени у групама пацова третираним дулаглутидом и семаглутидом у поређењу са нетретираном групом. Такође, значајно је напоменути да су вредности овог

антиоксидационог ензима биле значајно више код пацова третираних семаглутидом у односу на групе пацова третиране лираглутидом и ексенатидом (График 9А). Вредности редукованог глутатиона биле су сличне код свих испитиваних група пацова (График 9Б). Међутим, вредности каталазе биле су статистички значајно повишене у свим третираним групама у односу на нетретирану (МетС) групу пацова (График 9В).

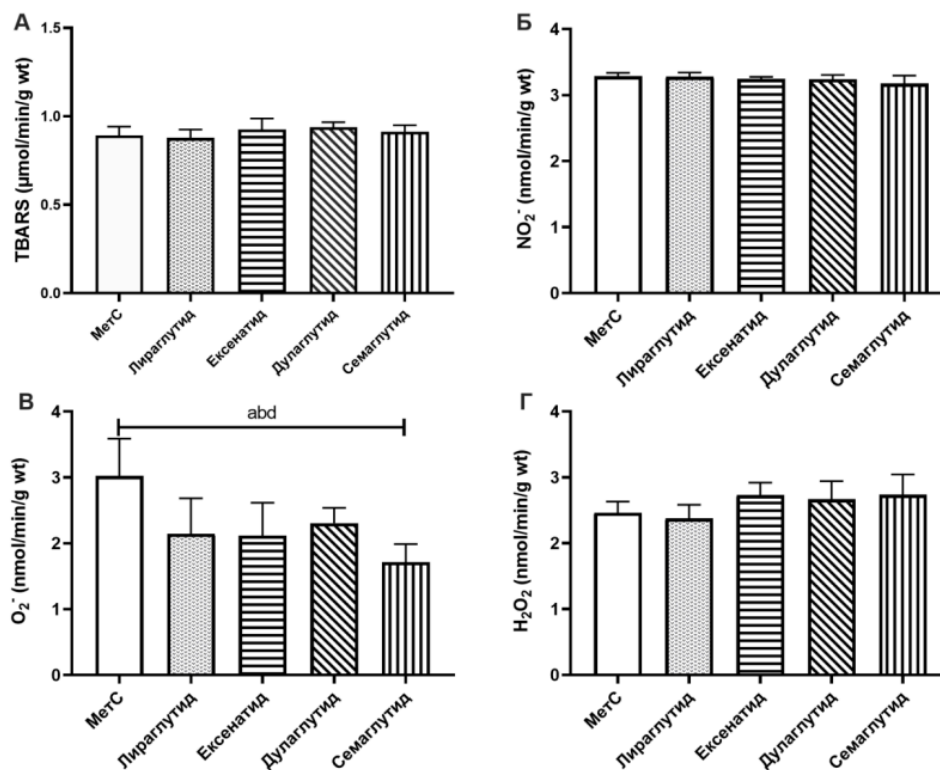


График 8. Вредности прооксидационих параметера у крви. (А) индекс липидне пероксидације – мерен као TBARS, (Б) нитрити – NO₂⁻, (В) супероксид анјон радикал – O₂⁻ (Г) водоник пероксид – H₂O₂. ^a p<0,05 МетС vs. Лираглутид; ^b p<0,05 МетС vs. Ексенатид; ^c p<0,05 МетС vs. Дулаглутид; ^d p<0,05 МетС vs. Семаглутид; ^e p<0,05 Лираглутид vs. Ексенатид; ^f p<0,05 Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g p<0,05 Лираглутид vs. Семаглутид; ^h p<0,05 Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ p<0,05 Ексенатид vs. Семаглутид; ^j p<0,05 Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност ± СД, n = 10, по групи.

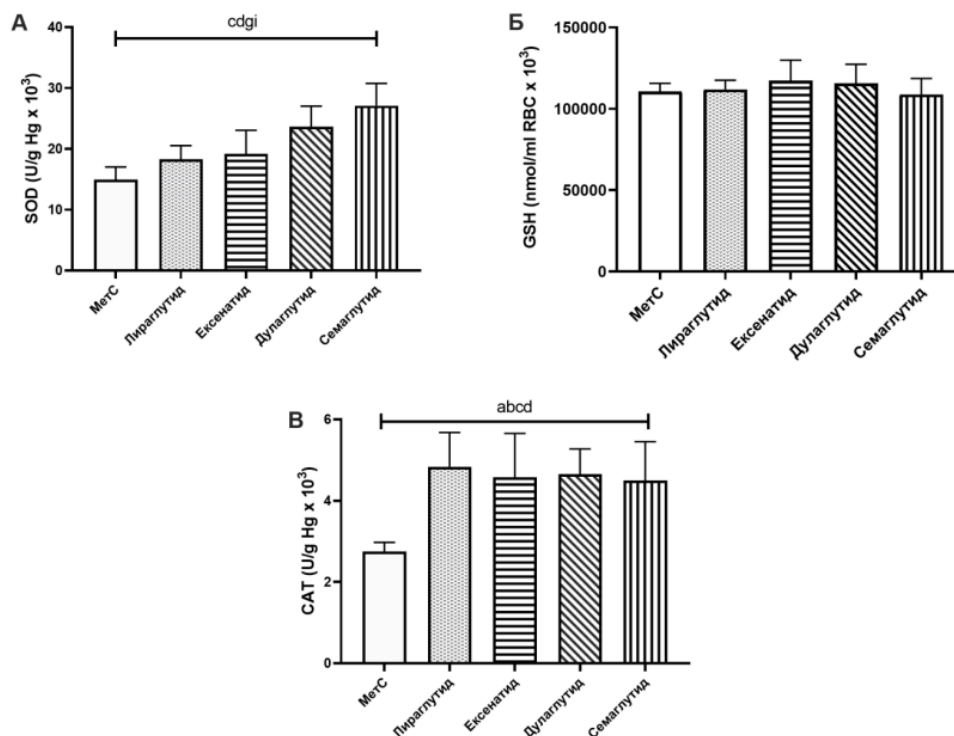


График 9. Вредности антиоксидационих параметара у крви. (А) супероксид дисмутаза – SOD, (Б) редуковани глутатиона – GSH (В) каталазе – CAT. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.6 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ХЕМОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ

4.6.1 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 на крвни притисак пацова

Током истраживања, мерење систолног притиска спроведено је у различитим временским интервалима, са циљем да се утврде потенцијалне промене у крвном притиску у зависности од примењеног третмана. Вредности СКП су приказане на Графику 10. У свим групама које су третиране агонистима GLP-1R забележене су ниже вредности СКП у поређењу са вредностима које су забележене код пацова на самом почетку експерименталног протокола. Са друге стране, у MetC групи вредности СКП биле су сличне током целог експерименталног протокола (График 10).

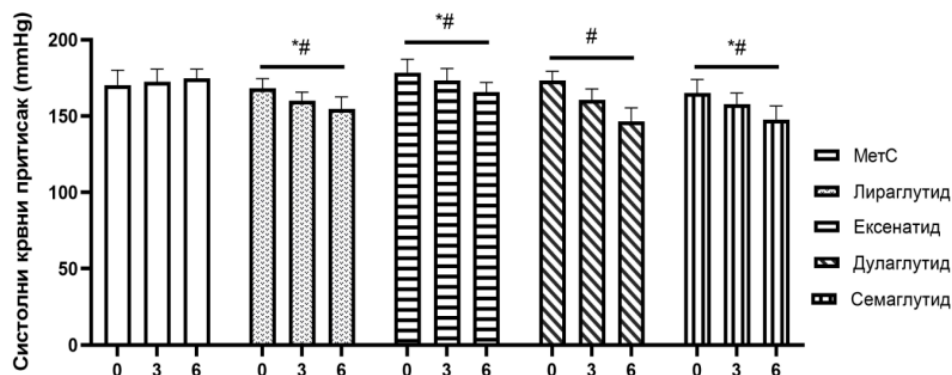


График 10. Вредности систолног крвног притиска праћене током експерименталног протокола. 0 – вредности измерене на почетку експеримента; 3 – вредности измерене на крају треће недеље експеримента; 6 – вредности измерене на крају шесте недеље експеримента. * $p < 0,05$ 0 vs. 3; # $p < 0,05$ 0 vs. 6; $^s p < 0,05$ 3 vs. 6. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.6.2 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на *in vivo* хемодинамске параметре срца

Средње вредности измерених ехокардиографских параметара димензија леве коморе, ејекционе фракције и фракције скраћења дате су у табели 1.

У свим третираним групама примећујемо значајно смањење дебљина зида интервентрикуларног септума на крају дијастоле као и смањење унутрашње димензије леве коморе на крају систоле у поређењу са МетС групом. Док са друге стране, смањење унутрашње димензије леве коморе на крају дијастоле уочавамо у Дулаглутид групи у поређењу са МетС и Семаглутид групом. Третман ексенатидом утицао је на вредности LVPWd, смањивши их у односу на МетС и Дулаглутид групу, где је такође уочена разлика у корист Дулаглутид групе. Анализом вредности параметра IVSs примећено је значајно смањење у групи која је била третирана дулаглутидом у односу на остале испитиване групе. Такође, у наведеној групи уочено је повећање ејекционе фракције у односу на МетС групу док у осталим третираним групама није примећена статистички значајна разлика.

Табела 1. Хемодинамски параметри мерени in vivo.

	MetC	Лираглутид	Ексенатид	Дулаглутид	Семаглутид
IVSd (cm)	0,33±0,07 abcd	0,12±0,01	0,14±0,03	0,14±0,02	0,15±0,01
LVIDd (cm)	0,67±0,05 d	0,73±0,03	0,75±0,02	0,67±0,07 j	0,78±0,05
LVPWd (cm)	0,17±0,01 bc	0,15±0,04	0,15±0,03 h	0,14±0,01	0,16±0,01
IVSs (cm)	0,21±0,01 c	0,17±0,01 f	0,17±0,02 h	0,14±0,03 j	0,20±0,01
LVIDs (cm)	0,48±0,05 abcd	0,43±0,03	0,41±0,01	0,38±0,03	0,44±0,08
LVPWs (cm)	0,21±0,02	0,20±0,03	0,18±0,01	0,17±0,04	0,19±0,02
FS (%)	42,07±3,76	40,87±2,36	41,36±9,13	47,72±5,29	37,35±3,39
EF (%)	78,58±4,08 c	76,98±2,69	81,31±1,28	85,24±3,30	79,71±8,41

IVSd/IVSs - дебелина зида интервентрикуларног септума на крају дијастоле/систоле (cm); LVIDd/LVIDs - унутрашња димензија леве коморе на крају дијастоле/систоле (cm); LVPWd/LVPWs - дебелина задњег зида леве коморе на крају дијастоле/систоле (cm); FS - проценат фракционог скраћења; EF - ејекциона фракција у процентима. ^a p<0,05 MetC vs. Лираглутид; ^b p<0,05 MetC vs. Ексенатид; ^c p<0,05 MetC vs. Дулаглутид; ^d p<0,05 MetC vs. Семаглутид; ^e p<0,05 Лираглутид vs. Ексенатид; ^f p<0,05 Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g p<0,05 Лираглутид vs. Семаглутид; ^h p<0,05 Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ p<0,05 Ексенатид vs. Семаглутид; ^j p<0,05 Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност ± СД, n = 10, по групи.

4.7 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ

Промене кардиодинамских параметара у свим испитиваним групама након периода стабилизације и током првог и шездесетог минута реперфузије представљени су на Графику 11.

Статистички значајан пад контрактилне функције, који се огледа кроз смањење вредности dp/dt max након 60. минутне реперфузије у поређењу са периодом стабилизације примећен је у нетретираној (MetC) групи животиња (График 11А). Са друге стране, шестонедељна примена лираглутида побољшала је контрактилну функцију миокарда, повећањем вредности dp/dt max у последњем минуту реперфузије у односу на период стабилизације и први минут поновног успостављања протока (График 11А). Додатно, више вредности dp/dt min забележене су код изолованих срца пацова у периоду стабилизације и 60. минуту реперфузије у односу на први минут, у групама на третману лираглутидом, ексенатидом и дулаглутидом (График 11Б). Статистички значајне разлике у притисцима (SLVP, DLVP) након ретроградне перфузије изолованог срца пацова нису забележене у испитиваним групама (График 10В; График 11Г). Када је реч о срчаној фреквенци, код нетретираних пацова примећено је значајно смањење у првом и 60. минуту ретроградне перфузије у односу на период стабилизације. Са друге стране, примена лираглутида, ексенатида и дулаглутида изазвала је смањење фреквенце код изолованих срца пацова у првом минуту поновног успостављања протока, да би се након 60 минута те вредности значајно повећале и вратиле на вредности које су биле и у периоду стабилизације (График 11Д). Шестонедељна примена лираглутида и дулаглутида проузроковала је и статистички значајно повећање коронарног протока у шездесетом минуту реперфузије, посматрано у односу на период стабилизације (График 11Ђ).

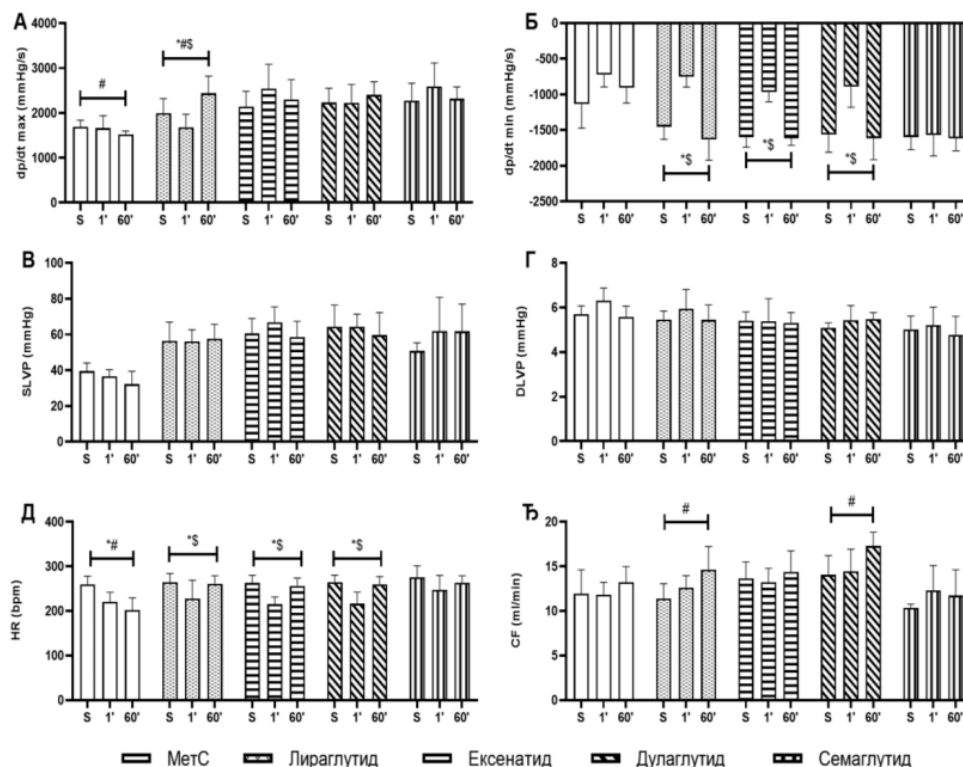


График 11. Кардиодинамски параметри праћени током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама. (А) максимална стопа развоја притиска у левој комори – dp/dt max, (Б) минимална стопа развоја притиска у левој комори – dp/dt min, (В) систолни притисак у левој комори – SLVP, (Г) дијастолни притисак у левој комори – DLVP, (Д) фреквенца срца – HR и (Ђ) коронарни проток – CF. MetC - нетретиран пацов са метаболичким синдромом; S- стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, n = 10, по групи. * p<0,05 S vs. 1; # p<0,05 S vs. 60; \$ p<0,05 1 vs. 60.

4.7.1 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 на максималну стопу промене притиска у левој комори (dp/dt max)

На Графику 12 приказане су и упоређене вредности максималне стопе промене притиска изолованог срца пацова код свих испитиваних третираних група животиња. Наиме, шестонедељна администрација агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 допринела је побољшаној контрактилној функцији у експерименталним групама у односу на контролну, нетретирану групу. Ово се посебно види приликом компарације ових вредности у последњем минуту реперфузије (График 12А-Г). Међутим, у групама које су третиране ексенатидом и семаглутидом статистички више вредности dp/dt max у односу на MetC групу примећене су и у првом минуту реперфузије (График 12Б и График 12Г). На Графику 12Д, где су приказане све вредности за овај параметар свих група које су третиране агонистима рецептора за пептид сличан глукагону-1 можемо

приметити да су у првом минуту поновног успостављања протока примећене статистички значајно ниже вредности dp/dt max у лираглутид групи у односу на вредности забележене у ексенатид и семаглутид групама.

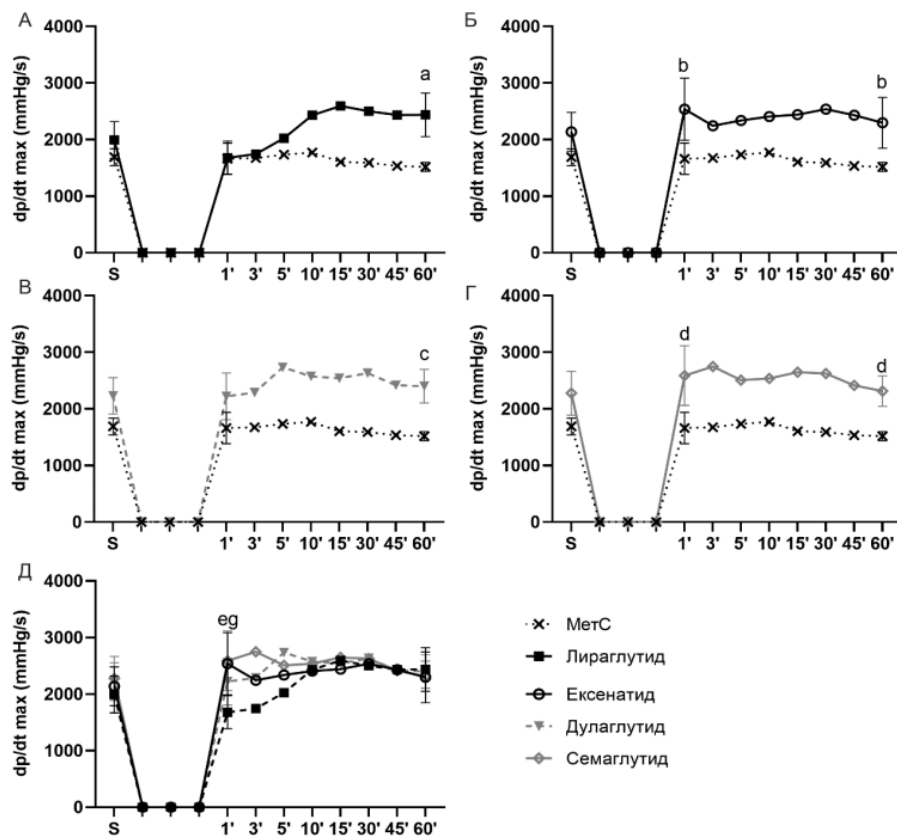


График 12. Вредности dp/dt max праћене током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са Метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.7.2 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на минималну стопу промене притиска у левој комори ($dp/dt \min$)

На Графику 13. приказане су и упоређене вредности минималне стопе промене притиска изолованог срца пацова код свих испитиваних третираних група животиња. Вредности параметра $dp/dt \min$ такође указују на побољшану функцију изолованог срца пацова у третираним групама у односу на нетретиране животиње, са метаболичким синдромом, што је и приказано на Графику 13. Шестонедељни третман агонистима проузроковао је статистички значајно повећање негативности вредности $dp/dt \min$ у последњем минуту ретроградне перфузије у свим групама у поређењу са нетретираном групом. Такође, у семаглутид групи вредности $dp/dt \min$ биле су значајно више и у првом минуту реперфузије. Са друге стране, забележена је и статистички значајна разлика у вредностима мереног параметра у првом минуту реперфузије у семаглутид групи у односу на све три третиране групе.

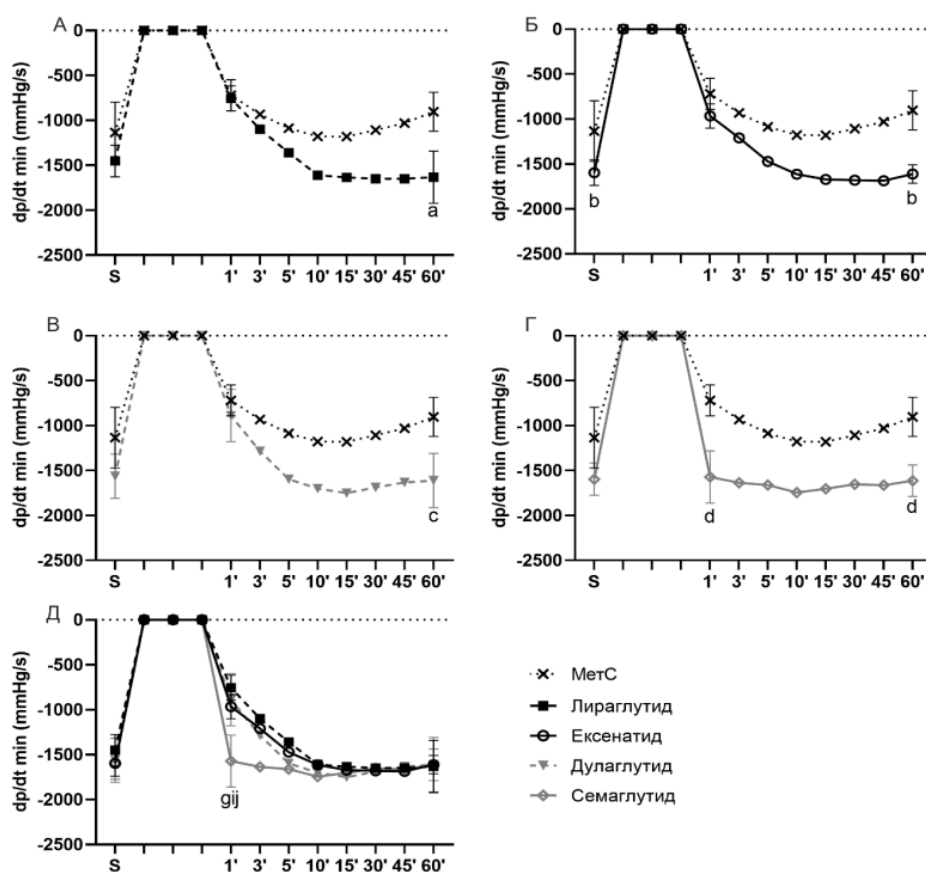


График 13. Вредности $dp/dt \min$ праћене током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. МетС - нетретирани пацови са Метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне

перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 6$, по групи. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.7.3 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на систолни притисак у левој комори (SLVP)

Вредности параметра SLVP које су праћене током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказане су на Графику 14. Резултати показују да је забележено статистички значајно повећање систолног притиска у левој комори у првом и последњем минути реперфузије у свим групама животиња које су биле третиране агонистима у односу на нетретирану групу. Значајне разлике испитиваног параметра у периоду реперфузије између експерименталних група нису забележене.

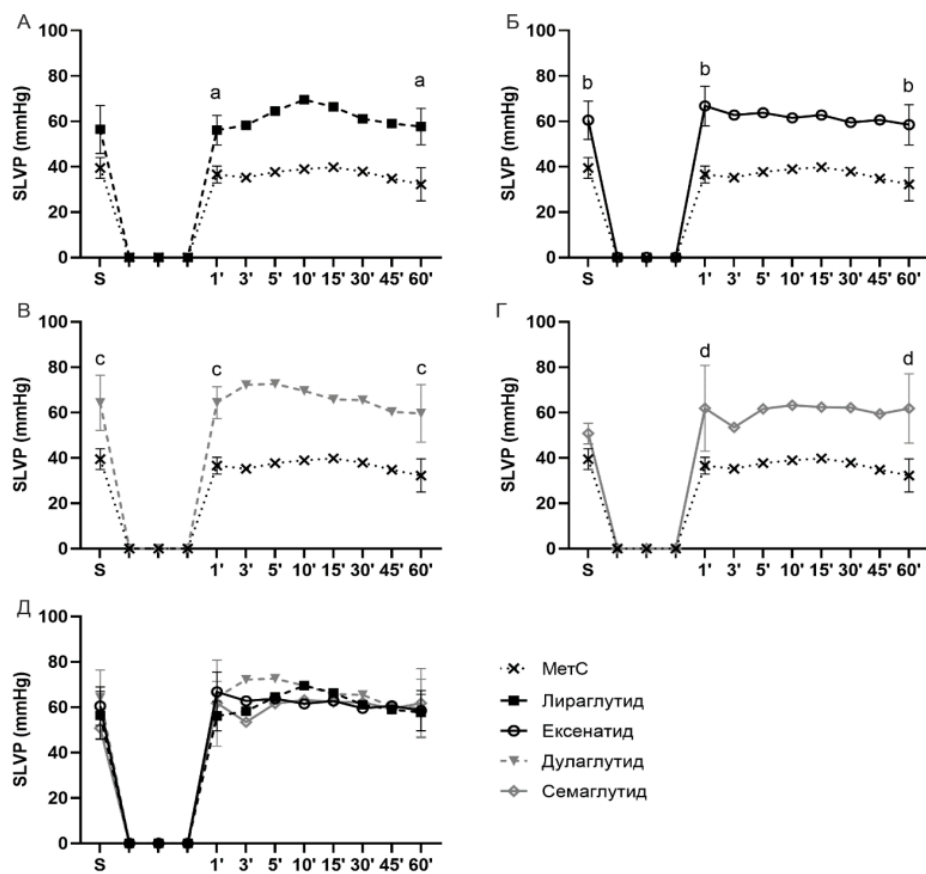


График 14. Вредности SLVP праћене током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са Метаболичким синдромом; S- стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи.

4.7.4 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на дијастолни притисак у левој комори (DLVP)

Вредности параметра DLVP које су праћене током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказане су на Графику 15. Нису забележене значајне разлике дијастолног притиска у левој комори између експерименталних група али ни у односу на контролну групу.

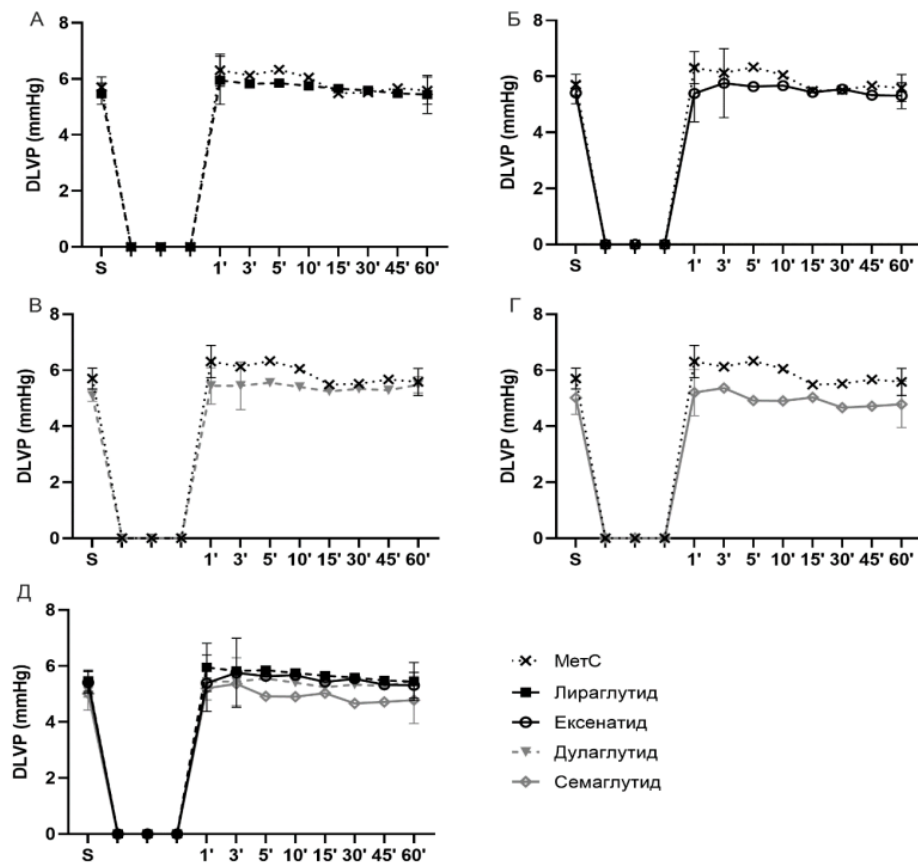


График 15. Вредности DLVP праћене током *ex vivo* ретроградне експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са Метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.7.5 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 на срчану фреквенцу (HR)

Вредности срчане фреквенце праћене током периода стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказане су на Графику 16. Примећено је значајно повећање овог параметра у шездесетом минуту ретроградне перфузије у свим испитиваним групама које су третиране агонистима рецептора за пептид сличан глукагону-1 у односу на нетретирану, контролну групу са индукованим метаболичким синдромом. Међутим, вредности овог параметра између третираних група биле су сличне током читавог *ex vivo* протокола.

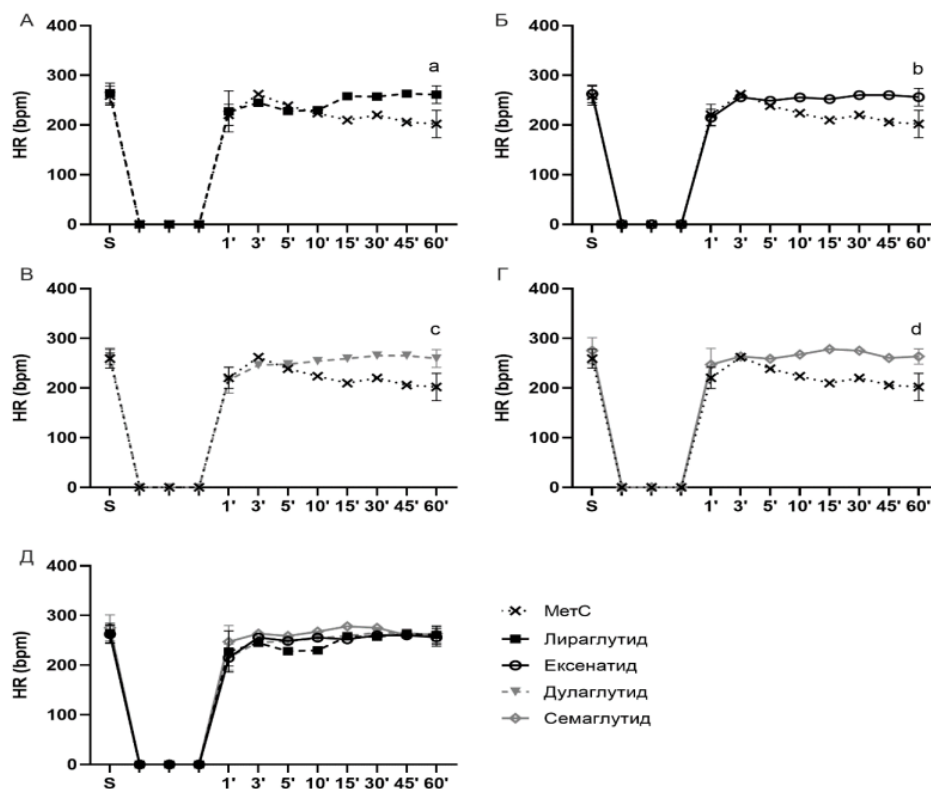


График 16. Вредности срчане фреквенце (HR) праћене током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. МетС - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S- стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.7.6 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на коронарни проток (CF)

Вредности коронарног протока током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказане су на Графику 17. Међутим, као што се јасно уочава са графикона нису забележене значајне разлике испитиваног параметра између експерименталних група, али ни у односу на контролну групу. Једино су вредности коронарног протока у дулаглутид групи биле статистички значајно више у односу на вредности забележене у семаглутид групи.

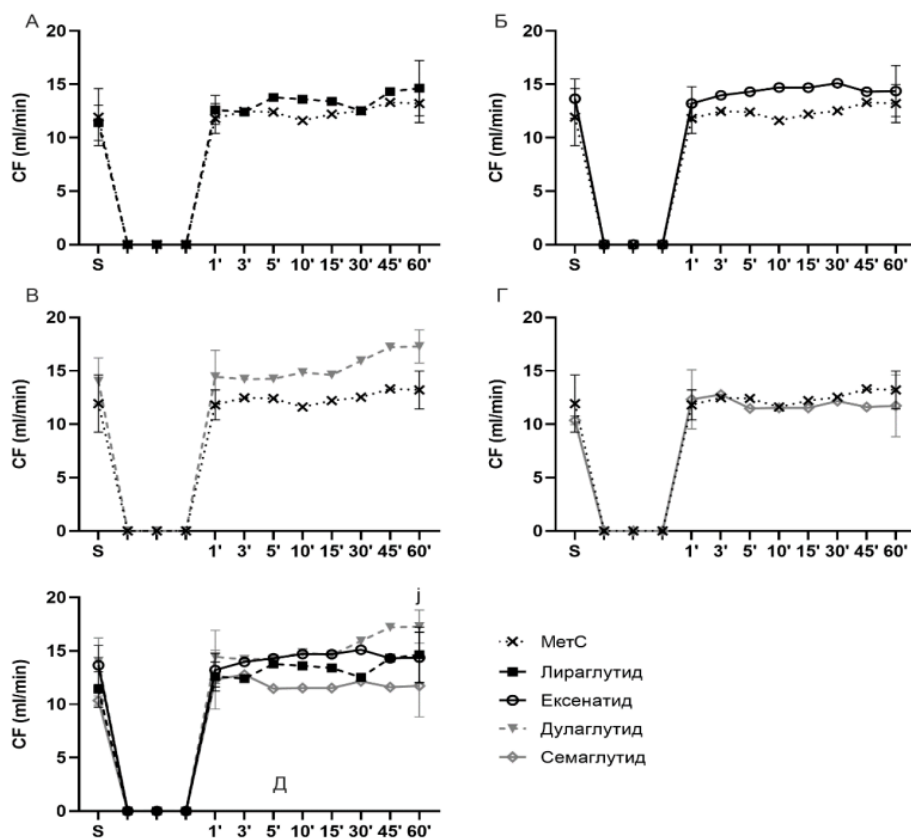


График 17. Вредности CF праћене током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S- стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.8 ИСПИТИВАЊЕ ЕФЕКТА ПРИМЕНЕ АГОНИСТА РЕЦЕПТОРА ЗА ПЕПТИД СЛИЧАН ГЛУКАГОНУ-1 НА ПРООКСИДАЦИОНЕ ПАРАМЕТРЕ МЕРЕНЕ У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ

Вредности прооксидационих параметара, мерених у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова у контролној и експерименталним групама након периода стабилизације и током првог и шездесетог минута реперфузије приказане су на Графику 18. Вредности индекса липидне пероксидације биле су сличне у свим тачкама од интереса (S, 1' и 60') у свим испитиваним групама (График 18А). Међутим, примена лираглутида и семаглутида изазвала је значајно повећање концентрације NO_2^- у 60. минуту реперфузије, у односу на период стабилизације (График 18Б).

Разлике између различитих тренутака експерименталног периода примећени су и када је реч о супероксидном анион радикалу. Детектована је статистички значајна разлика након примене лираглутида, где је највећа концентрација овог маркера забележена у првом минуту реперфузије, и та вредност је била значајно виша од концентрација у оба тренутка мерења (График 18В). Са друге стране, примена ексенатида је показала да је најмања концентрација овог маркера детектована у 60. минуту ретроградне перфузије и та концентрација је значајно нижа од концентрације детектоване у периоду стабилизације и првом минуту реперфузије (График 18В).

Када је реч о ослобађању H_2O_2 примећујемо да је индукован метаболички синдром без терапије изазвао значајно смањење концентрације у 60. минуту у односу на први минут и период стабилизације. Супротно томе, примена дулаглутида је значајно повећала ослобађање датог прооксидационог маркера у последњем минуту реперфузије у односу на први минут и период стабилизације (График 18Г).

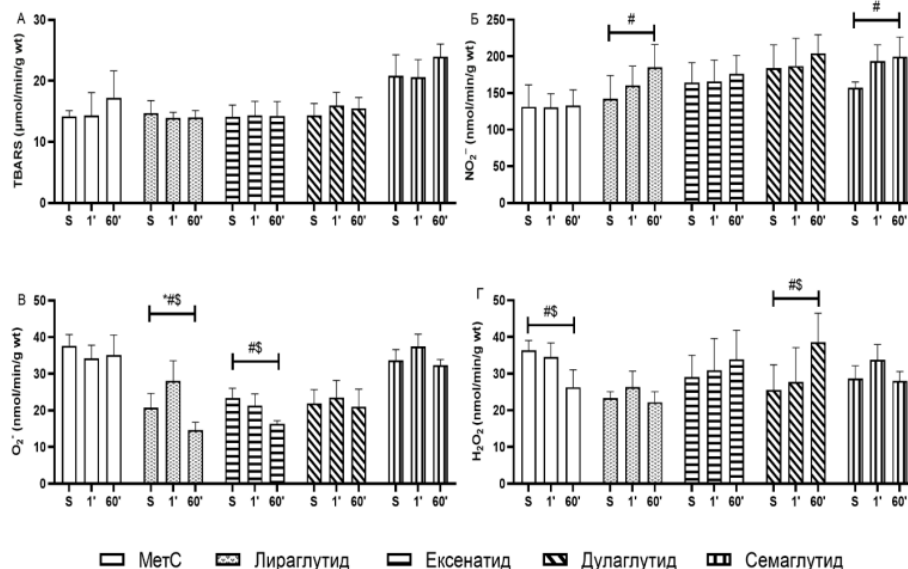


График 18. Прооксидациони параметри мерени у коронарном венском ефлуенту током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са MetC; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 6$, по групи. * $p < 0,05$ S vs. 1; # $p < 0,05$ S vs. 60; \$ $p < 0,05$ 1 vs. 60.

4.8.1 Испитивање ефеката примене на индекс липидне пероксидације (TBARS)

На Графику 19 приказан је ефекат примене агониста рецептора за пептид сличан глукAGON-1 на ослобађање TBARS. Резултати указују да је примена семаглутида **допринела** статистички значајном повећању ослобађања овог прооксидационог маркера у односу на нетретирану групу у тренутку стабилизације и у првом и последњем минуту реперфузије (График 19Г). Примена лираглутида, ексенатида и дулаглутида није изазвала значајне разлике у концентрацији овог маркера у поређењу са контролном групом.

Исто тако, примена семаглутида је проузроковала значајно веће ослобађање датог маркера у односу на остале примењене агонисте током периода стабилизације и целокупне реперфузије, а то је статистички и потврђено у периоду стабилизације и првом и последњем минуту ретроградне перфузије.

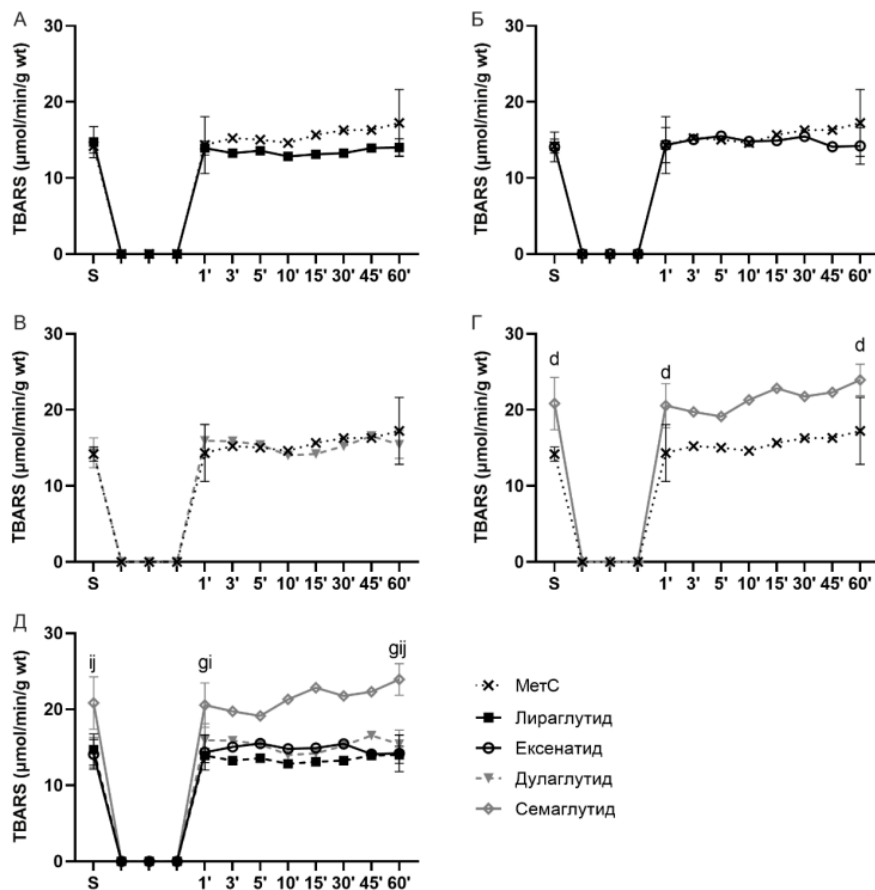


График 19. Ефекти шестонедељне примене на TBARS током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.8.2 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на нитрите (NO_2^-)

Ослобађање прооксидационог маркера NO_2^- детектовано у коронарном венском ефлуенту свих испитиваних група приказано је на Графику 20. Резултати указују да је примена дулаглутида и семаглутида изазвала повећано ослобађање овог

прооксидационог маркера у односу на нетретирану групу у последњем, односно првом и последњем минути реперфузије (График 20В-Г). Додатно, може се уочити да не постоји значајна разлика у вредностима овог испитиваног параметара између експерименталних група које су третиране различитим агенсима.

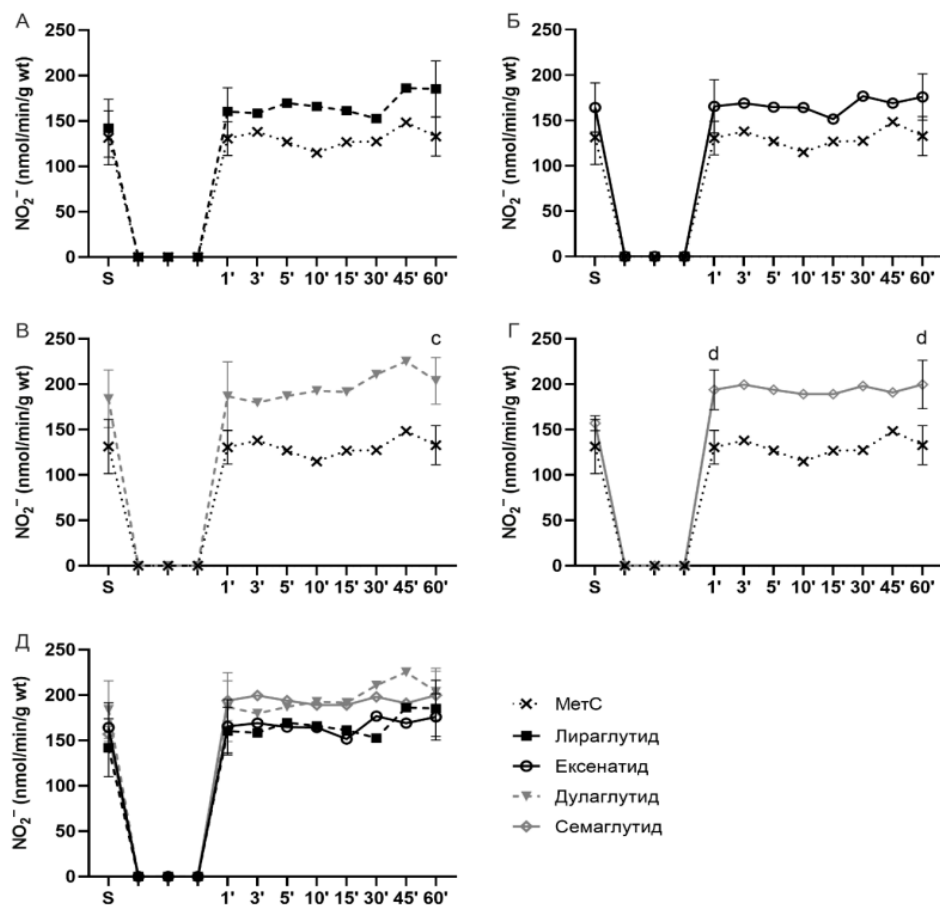


График 20. Ефекти шестонедељне примене на NO_2^- током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ MetC vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ MetC vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ MetC vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ MetC vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.8.3 Испитивање ефеката примене агониста рецептора за пептид сличан глюкагону-1 на супероксид анион радикал (O_2^-)

Ослобађање прооксидационог маркера O_2^- у коронарном венском ефлуенту током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказано је на Графику 21. Резултати показују да је примена 8-глаголутида, ексенатида и дулаглутида значајно смањила ослобађање овог маркера у односу на нетретирану групу у тренутку стабилизације, као и првом и последњем минуту реперфузије (График 21 А,Б,В). Када посматрамо само експерименталне групе уочавамо да је семаглутид довео до највећег ослобађања O_2^- , и то у односу на ексенатид и дулаглутид у тренутку стабилизације а у односу на сва три примењена агенса у првом и последњем минуту реперфузије (График 21Д).

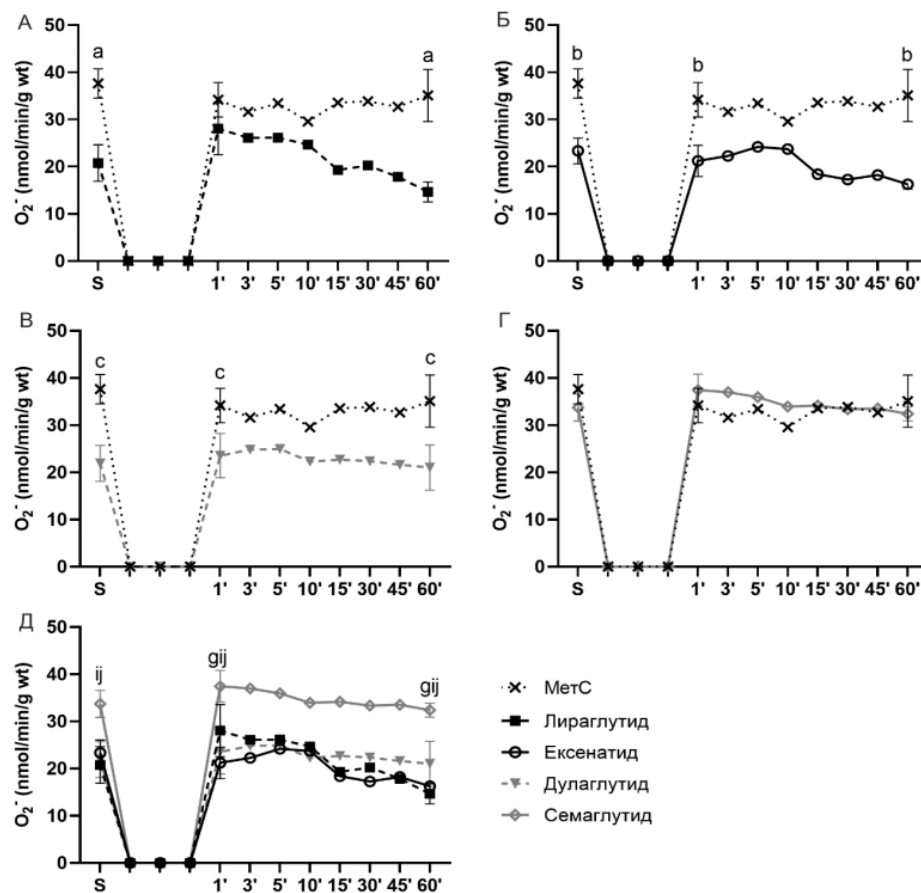


График 21. Ефекти шестонедељне примене на O_2^- током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. MetC - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, n = 10, по минут ретроградне перфузије.

групи. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.8.4 Испитивање ефекта примене агониста рецептора за пептид сличан глюкагону-1 на водоник пероксид (H_2O_2)

Ослобађање прооксидационог маркера H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту током стабилизације и шездесетоминутне *ex vivo* ретроградне перфузије у испитиваним групама приказано је на Графику 22. Резултати показују да је значајно већа концентрација H_2O_2 забележена у 60. минуту реперфузије у групи животиња које су третиране дулаглутидом у односу на нетретиране животиње (График 22В). Поређењем концентрација датог маркера између експерименталних група уочавамо да је концентрација у 60. минуту реперфузије у лираглутид групи статистички значајно нижа него у ексенатид и дулаглутид групама (График 22Д).

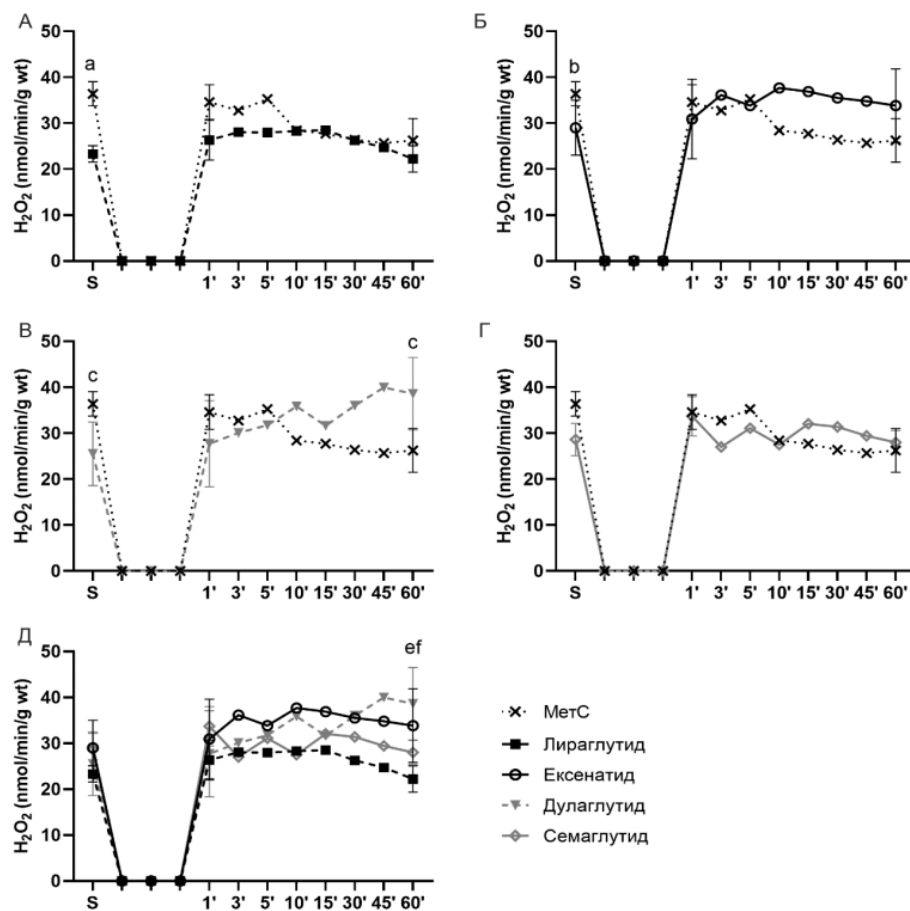


График 22. Ефекти шестонедељне примене на H_2O_2 током *ex vivo* експерименталног протокола у испитиваним групама. МетС - нетретирани пацови са метаболичким синдромом; S-стабилизација; 1' - 1. минут ретроградне перфузије; 3' - 3. минут ретроградне перфузије; 5' - 5. минут ретроградне перфузије; 10' - 10. минут ретроградне перфузије; 15' - 15. минут ретроградне перфузије; 30' - 30. минут ретроградне перфузије; 45' - 45. минут ретроградне перфузије; 60' - 60. минут ретроградне перфузије. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.9 МОРФОМЕТРИЈСКЕ И МОРФОЛШКЕ АНАЛИЗЕ ОРГАНА

4.9.1 Морфометријска и морфолошка анализа срца и аорте

Морфометријску анализу срца и аорте, спровели смо у циљу процене ефекта примене агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1. Овом анализом праћени су ефекти поменуте терапије на површину попречног пресека кардиомиоцита, садржај колагених влакана у срцу и дебљину зида аорте.

4.9.1.1 Површина попречног пресека кардиомиоцита

Морфометријском анализом, одредили смо промену површине попречног пресека кардиомиоцита након завршеног експерименталног протокола. Резултати су приказани на Графику 23.

У свим групама третмани GLP-1 агонистима смањили су површину попречног пресека кардиомиоцита у поређењу са МетС групом. У лираглутид групи смањење је било 17%, у ексенатид групи је било 11%, у дулаглутид групи је било 18%, и у семаглутид групи је било 16%. Поређењем између експерименталних група, третман лираглутидом смањио је површину кардиомиоцита за 7%, третман дулаглутидом смањио је за 7% у односу на групу која је била на третману ексенатидом (График 23).

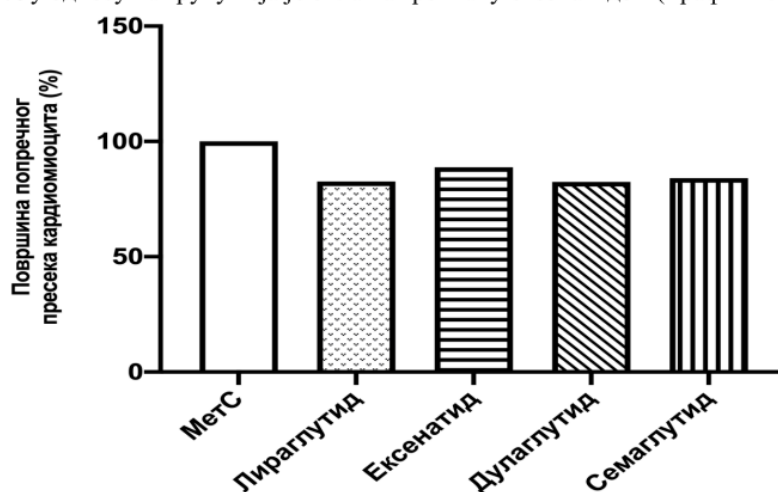


График 23. Ефекти шестонедељне примене на површину попречног пресека кардиомиоцита. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

4.9.1.2 Садржај колагених влакана у срцу

Промена количине колагених влакана у срцу пацова након завршеног експерименталног протокола приказана је на Графику 24. и на Слици 4.

Смањење количине колагених влакана у срцу пацова уочено је у свим експерименталним групама. Третман ексенатидом смањio је садржај колагених влакана за 53%, третман дулаглутидом за 68%, третман лираглутидом за 66% и третман семаглутидом за 64% у поређењу са МетС групом. Поређењем између експерименталних група, у групи животиња третираних дулаглутидом уочено је смањење садржаја колагених влакана за 32%, у групи животиња третираних лираглутидом уочено је смањење за 29% док је у групи животиња третираних семаглутидом уочено смањење од 24% у односу на групу животиња третиране ексенатидом. Третман животиња семаглутидом повећао је садржај колагена у односу на третман дулаглутидом за 11% док је у односу на третман лираглутидом повећање било 7%. Није било разлике у количини колагених влакана између група које су биле на третману дулаглутидом и лираглутидом (График 24).

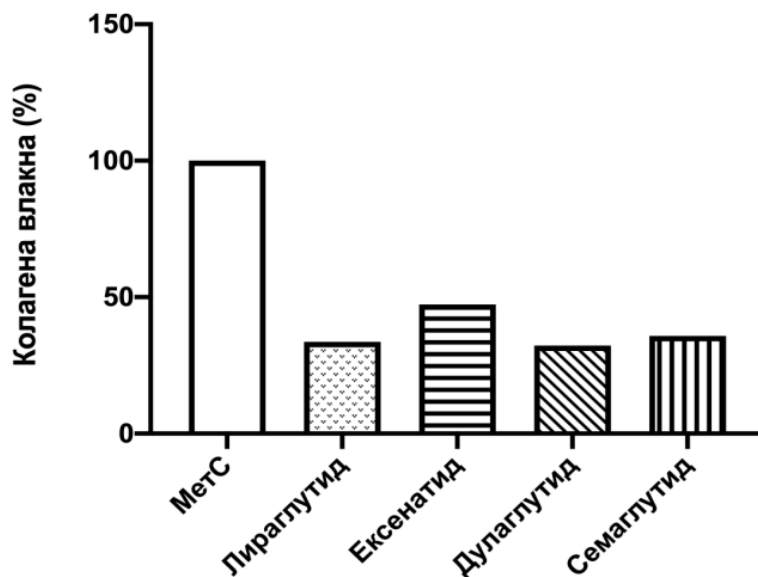
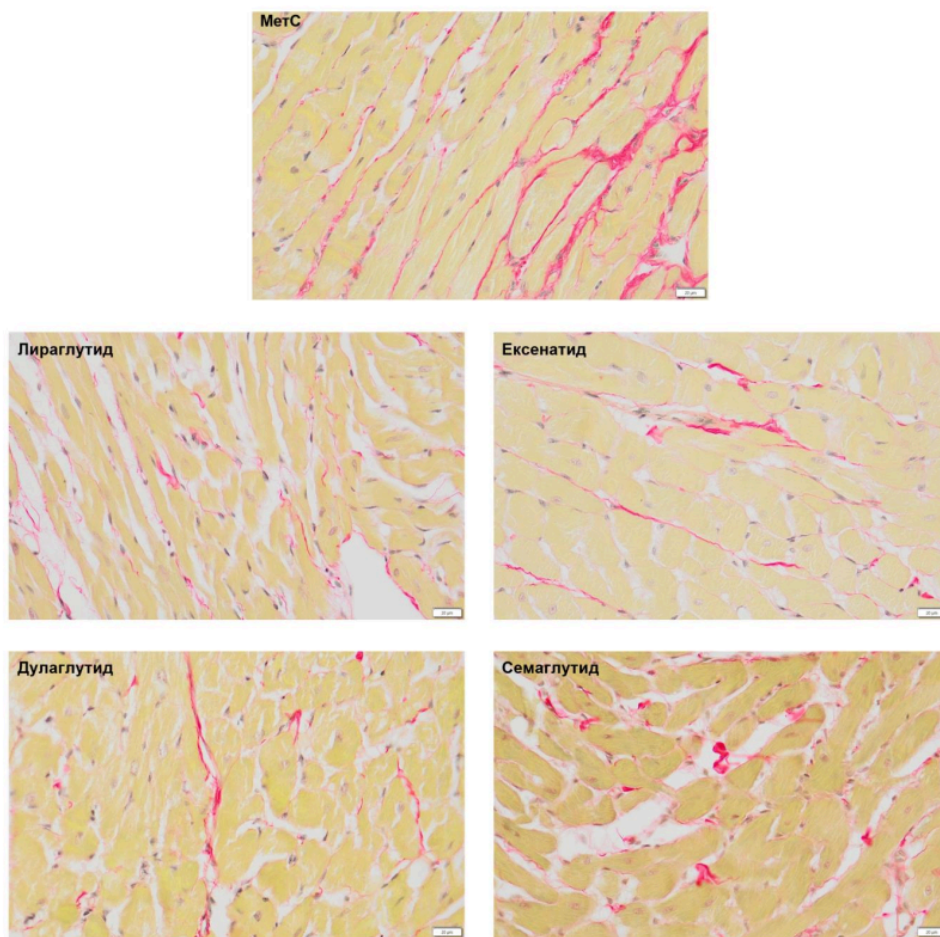


График 24. Ефекти шестонедељне примене на садржај колагених влакана у срцу. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. ^a $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; ^b $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; ^c $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; ^d $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; ^e $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ^f $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; ^g $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ^h $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; ⁱ $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ^j $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.



Депозити колагених влакана у срцу пацова, обележени су црвеном бојом коришћењем *Picro-Sirius Red* бојења. На сликама срца у MetC групи уочавају се изражени депозити колагених влакана, где су влакна грубља и више увезана. Са друге стране, сви примењени третмани значајно су смањили депозите колагених влакана у срцу пацова, што се може и уочити на Слици 4.

Слика 4. Микрографије хистохемијски обележених колагених влакана у срцу пацова обојених *Picrosirius red* методом (увећање објектива 40×, бар = 20 μm).

4.9.1.3 Дебљина зида аорте

Анализа резултата дебљине зида аорте су приказани на Графику 24 и Слици 5. У свим третираним групама уочено је смањену дебљину зида аорте након завршеног експерименталног протокола у поређењу са MetC групом. Дебљина зида аорте у Лиραглутид групи било је 25%, у Ексенатид групи било је 26%, у Дулаглутид групи било је 22% и у семаглутид групи било је 27% мања него у MetC. Смањење дебљине зида аорте у лираглутид групи било је 5% док је у семаглутид групи уочено смањење од 6% у

поређењу са дулаглутид групом. Између група третираних лираглутидом и семаглутидом није било разлике у дебљини зида аорте (График 25).

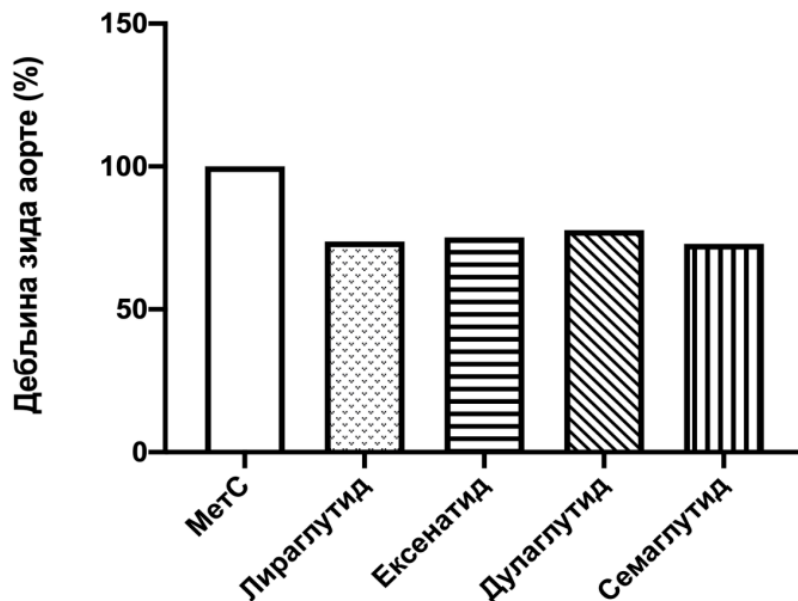
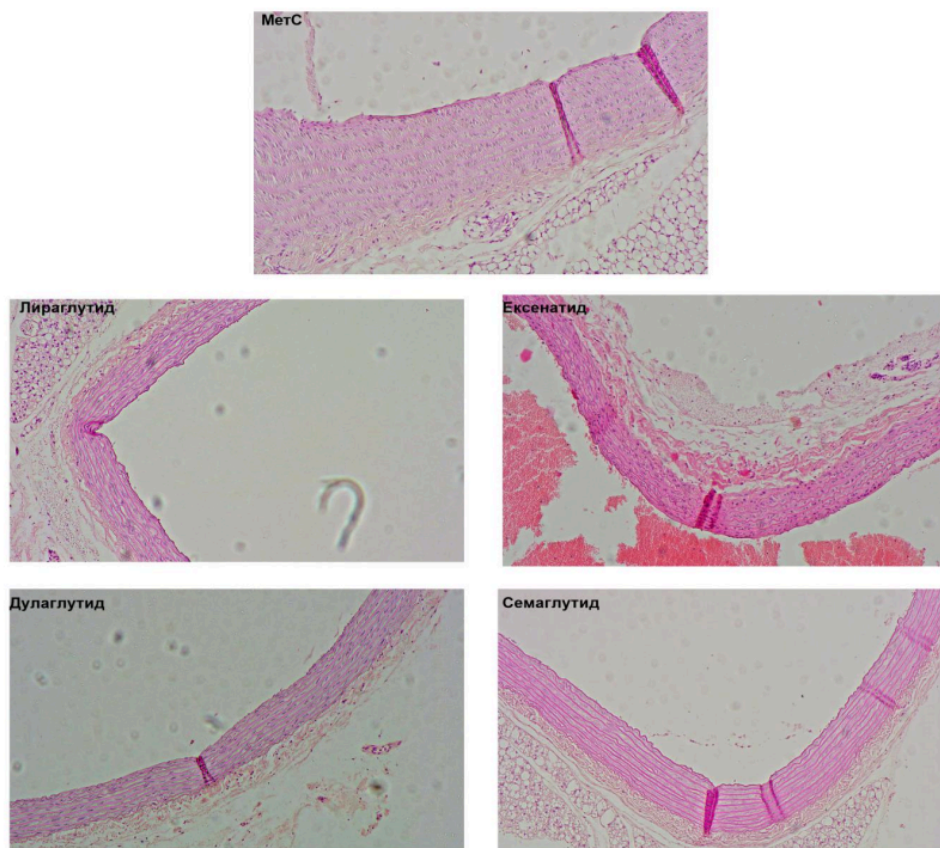


График 25. Ефекти шестонедељне примене на дебљину зида аорте. Вредности су приказане као средња вредност $\pm$ СД, $n = 10$, по групи. а $p < 0,05$ МетС vs. Лираглутид; б $p < 0,05$ МетС vs. Ексенатид; с $p < 0,05$ МетС vs. Дулаглутид; д $p < 0,05$ МетС vs. Семаглутид; е $p < 0,05$ Лираглутид vs. Ексенатид; ф $p < 0,05$ Лираглутид vs. Дулаглутид; г $p < 0,05$ Лираглутид vs. Семаглутид; ; х $p < 0,05$ Ексенатид vs. Дулаглутид; и $p < 0,05$ Ексенатид vs. Семаглутид; ј $p < 0,05$ Дулаглутид vs. Семаглутид.

У групи нетретираних животиња које имају метаболички синдром присутне су артеросклеротске промене зида аорте као и значајна дебљина зида аорте које није равномерно распоређено читавом дужином зида аорте. Са друге стране, све групе третиране GLP-1 агонистима имали су значајно мању дебљину зида аорте и мање артеросклеротских промена у зиду аорте (Слика 5).

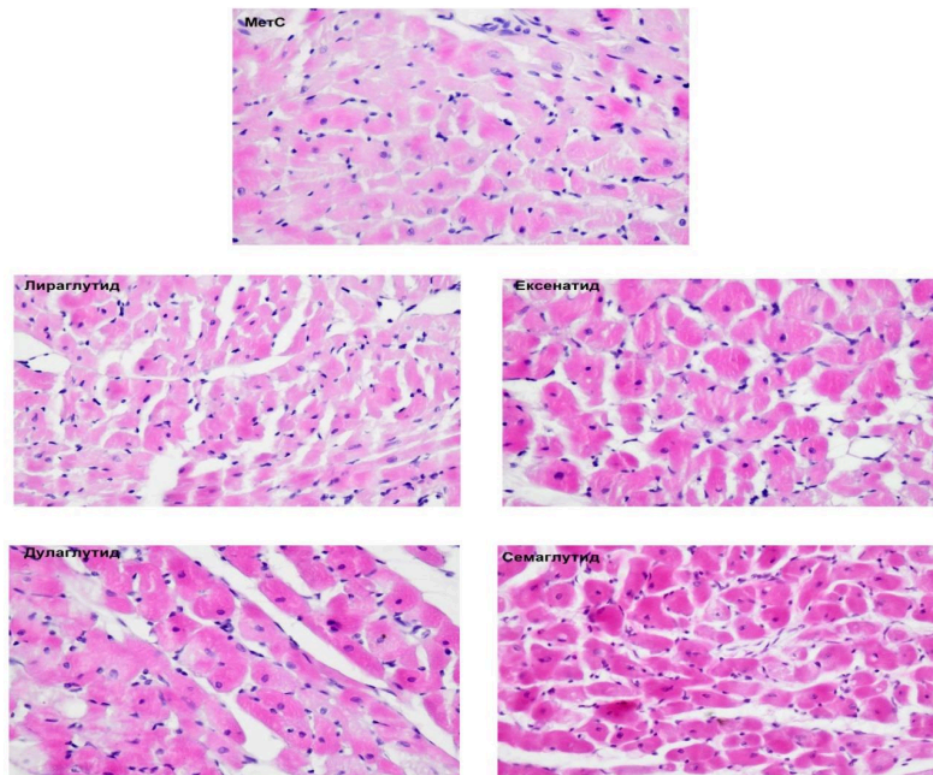


Слика 5. Микрографије аорте пацова обојених Хематоксили/Еозин методом (увећање објектива 100×).

4.9.1.4 Морфолошка анализа срца

Хистолошки препарати срца пацова свих група приказани су на Слици 6. На микрофотографијама срца, у MetC групи, уочена је изражена инфламација са присутним ћелијским инфилтратом, проширен интерстицијумски простор, таласаста влакна и хипертрофија кардиомиоцита. У групи животиња које су третиране ексенатидом уочава се инфламација без присуства инфилтрата, слабо изражен проширен интерстицијумски простор, хипертрофија појединачних кардиомиоцита без присуства таласастих влакана. У групи животиња које су биле на третману дулаглутидом, уочава се слабије изражена инфламација, хипертрофија појединачних кардиомиоцита без присуства проширеног интерстицијумског простора и таласастих влакана. У групи животиња третираних Лираглутидом уочава се проширен интерстицијумски простор, хипертрофија појединачних кардиомиоцита, таласаста влакна без присуства инфламације. У групи животиња које су биле на третману Семаглутидом уочава се проширен

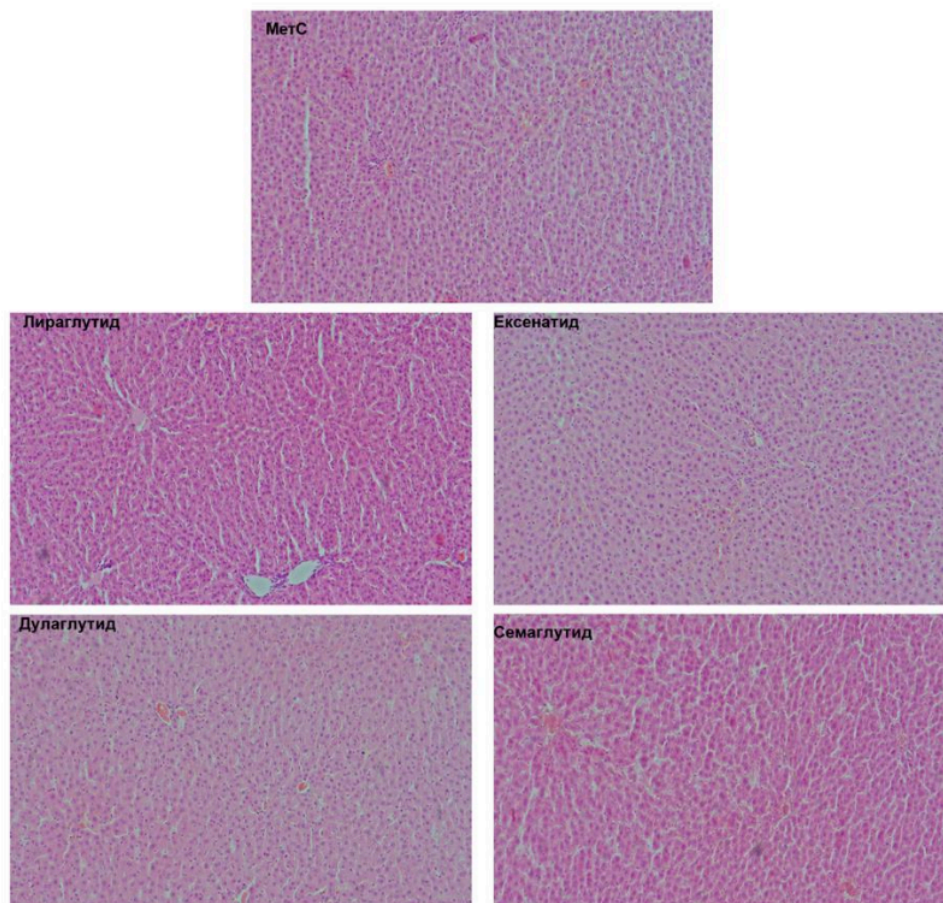
интерстицијумски простор, таласаста влакна, хипертрофија појединачних кардиомиоцита са хипертрофијом појединачних једара без присуства инфламације.



Слика 6. Микрофотографије срца бојене Хематоксилин/Еозин методом (увеличање 400×)

4.9.2 Морфолошка анализа јетре

На микрофотографијама пресека ткива јетре, у групи животиња којима је индукован метаболички синдром уочава се дискретна инфламација, вакуолизација појединачних хепатоцита и крварење. У осталим експерименталним групама у којима су животиње биле подвргнуте третманима ексенатидом, дулаглутидом, лираглутидом и семаглутидом уочене су сличне промене као код метаболичког синдрома, с тим што у третираним групама није била присутна инфламација (Слика 7).

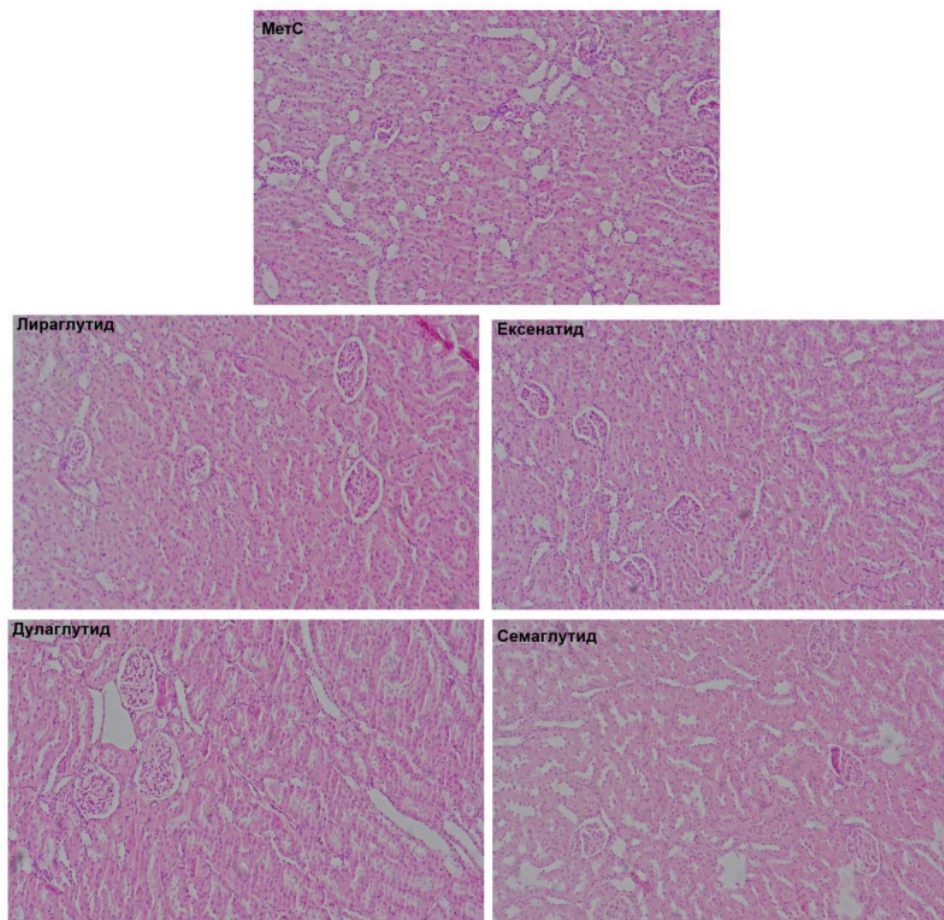


Слика 7. Микрофотографије ткива јетре обележене Хематоксилин/Еозин методом (увеличање 200×)

4.9.3 Морфолошка анализа бубрега

У групи нетретираних животиња са метаболичким синдромом уочава се атрофија гломерула са проширеним уринарним простором. Тубули нефрона су очуване грађе, али је присутна десквација епитела у сабирним тубулима. У групи животиња које су биле на третману ексенатидом не уочава се атрофија гломерула али су уринарни простори дискретно проширени док је десквација епитела тубула присутна у мањој мери и односу на MetC групу. У групи животиња које су биле подвргнуте третману дулаглутидом присутна је очувана грађа гломерула без проширеног уринарног простора али се уочава десквација епитела тубула. У групи животиња третираних Лираглутидом присутна је атрофија појединачних гломерула са проширеним интерстицијумским простором и десквација епитела тубула бубрега. У групи животиња које су подвргнуте третману семаглутидом уочава се очувана грађа гломерула

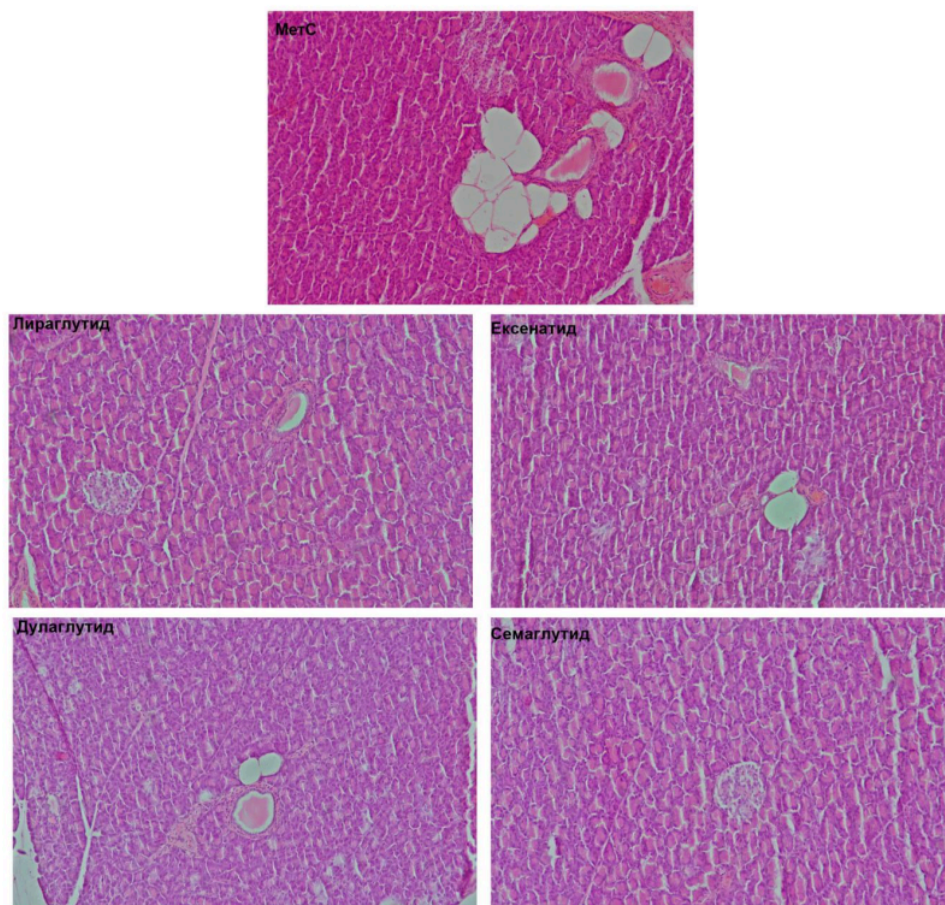
без проширених интерстицијумских простора док је десквамација епитела тубула слабо изражена (Слика 8).



Слика 8. Микрофотографије ткива бубрега обележене Хематоксилин еозин методом (увеличање 200×)

4.9.4 Морфолошка анализа панкреаса

На микрофотографијама ткивних пресека панкреаса, у нетретираној групи животиња присутна је инфламација са присуством масних капљица. Панкреасна острвца су очуване грађе. У групи животиња које су биле на третману ексенатидом не уочава се инфламација али су присутне масне капљице. У групи животиња којима је аплициран дулаглутид не уочава се инфламација али је уочено присуство масних капљица. У групи животиња третиране лираглутидом уочена је очувана морфолошка грађа панкреаса без присуства инфламације и масних капљица. У групи животиња третиране семаглутидом уочава се очувана грађа панкреасних острваца без присуства инфламације и масних капљица (Слика 9).



Слика 9. Микрофотографије ткива панкреаса обележене Хематоксилин еозин методом (увеличање 200×)

V

ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Ефекти агониста GLP-1R на ИП повреду срца у контексту метаболичког синдрома представљају једну од најсавременијих тема у истраживању кардиометаболичких обољења. МетС, који укључује висцералну гојазност, инсулинску резистенцију, интолеранцију глукозе, дислипидемију и хипертензију, значајно повећава ризик од развоја кардиоваскуларних болести, главног узрока смртности широм света (123).

Упркос напретку у развоју терапија за КВБ и МетС, постојећа лечења често не успевају да у потпуности спрече компликације због непотпуног разумевања патогенезе ових стања. Агонисти GLP-1R, међу којима су лираглутид, ексенатид, дулаглутид и семаглутид, представљају значајан помак у овој области. Они не само да смањују гликемију и телесну тежину, већ и потенцијално штите срце, побољшавајући инсулинску осетљивост и метаболичке параметре (67,124).

Значај овог истраживања огледа се у испитивању директних ефеката агониста GLP-1R на срчану функцију и органску хомеостазу у експерименталном моделу МетС. Посебан допринос даје анализи *in vivo* и *ex vivo* функције срца, као и испитивању системских и ткивних маркера оксидативног стреса, који играју кључну улогу у оштећењу током ИП повреде (125).

Истраживање такође прати хистоморфолошке промене срца, јетре, бубрега, аорте и панкреаса, чиме пружа свеобухватан увид у системске ефекте агониста GLP-1R. Резултати ових истраживања могу послужити као основа за будуће клиничке студије које ће разматрати њихову примену у превенцији и лечењу КВБ код пацијената са МетС, што би могло значајно смањити морталитет и морбидитет повезан са овим обољењем (126).

Применом ове терапијске стратегије, не само да се унапређује контрола МетС, већ се и пружају нове могућности за кардиопротекцију у клиничким сценаријима где је присутан висок ризик од исхемијско-реперфузионе повреде, што ова истраживања чини изузетно значајним за унапређење медицинске праксе.

5.1 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ТЕЛЕСНУ ТЕЖИНУ И ИНДЕКС ТЕЛЕСНЕ ТЕЖИНЕ

Узимајући у обзир да је повећање телесне тежине једна од значајних карактеристика МетС, телесна тежина је у овом истраживању пажљиво праћена код свих животиња на недељном нивоу. У нетретираној групи животиња са МетС током шестонедељног експерименталног протокола уочен је пораст телесне тежине као и BMI. Такође, сличан тренд пораста телесне тежине и BMI забележен је и у свим експерименталним групама које су третиране агонистима GLP-1R. Међутим, изузетак је била експериментална група пацова који су третирани семаглутидом, где није уочен значајан пораст телесне тежине током трајања истраживања. Важно је напоменути да пораст телесне тежине и BMI у експерименталним групама није био већи од пораста који је забележен у нетретираној групи са МетС, што указује да лекови из ове групе, а посебно семаглутид, имају потенцијал да утичу на контролу телесне тежине код животиња са метаболичким синдромом (График 1,2,3). Према постојећим литературним подацима, клиничка испитивања су показала да су пацијенти лечени семаглутидом у просеку изгубили 14,9% почетне телесне масе током 68 недеља третмана, што је значајно већи губитак у односу на пацијенте који су примали плацебо и који су изгубили око 2,4% телесне масе (127). Осим тога у литератури је показано да и остали агонисти GLP-1R који су испитивани у нашој студији такође показују способност да смање телесну тежину (128,129). Један од механизма који објашњава ову способност агониста GLP-1R да

смање телесну тежину јесте њихов утицај на успоравање пражњења желуца, што се дешава путем вагусног нерва и GLP-1R који се налазе у централном нервном систему и/или вагалним аферентним влакнима која преносе сензорне информације до мозданог стабла. Успоравање пражњења желуца последично доводи до смањења апетита и повећања осећаја ситости, што на крају резултује смањењем уноса калорија (67,130,131). Ови механизми су већ добро утврђени у научној литератури, што је и један од разлога за проширење индикација за одређене лекове из групе агониста GLP-1R, али такође и за све чешћу злоупотребу ових лекова у циљу мршављења (132,133). Међутим, као што се и може приметити, у нашој студији нисмо уочили значајно смањење индекса телесне тежине, као и телесне масе пацова, на крају експеримента у поређењу са почетним вредностима. Овакве резултате можемо објаснити чињеницом да су пацови који су коришћени у експерименту били млади па је њихов раст био очекиван током трајања студије. Управо због тога сматрамо да физиолошки процеси раста, који подразумевају повећање телесне масе, могу бити доминантнији од ефеката третмана на телесну тежину. Ово објашњава одсуство значајног утицаја третмана на индекс телесне тежине у овом специфичном временском периоду, јер раст младих пацова може маскирати потенцијални ефекат на губитак тежине који је обично видљивији код старијих или већ гојазних.

5.2 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ВРЕДНОСТИ ГЛИКЕМИЈЕ И ИНСУЛИНА

Обзиром да се метаболички синдром карактерише и инсулинском резистенцијом, у овој студији праћена је и гликемија, као и вредности глукозе и инсулина током ОГТ теста. Ова анализа је посебно релевантна јер је главна индикација за примену агониста GLP-1R лечење дијабетеса типа 2, који је тесно повезан са инсулинском резистенцијом и поремећајима у гликемији. Током хроничног третмана, резултати мерења вредности глукозе били су у складу са очекивањем, јер агонисти GLP-1R имају способност да смање вредност глукозе у крви. Наиме, није било значајних разлика у измереним вредностима гликемије између експерименталних група али код свих испитиваних група је примећен тренд смањења ових вредности са дужином примене лекова (График 4,5). Овај тренд је у корелацији са резултатима бројних студија које су показале да агонисти GLP-1R доприносе контроли гликемије код пацијената са дијабетес мелитусом (58,83,134). Слични резултати добијени су и током оралног теста оптерећења глукозом који се користи за процену метаболизма глукозе у организму. У свим тренуцима мерења нивоа глукозе у крви су били виши у у нетретираној групи пацова (MetC), у поређењу са групама које су третиране GLP-1 агонистима (График 6). Међутим, између група није било статистички значајних разлика у вредностима глукозе. Типичан одговор организма пацова на орално оптерећење глукозом, у нашој студији, подразумевао је брз пораст нивоа глукозе у крви након узимања раствора глукозе, који се касније постепено враћао на почетне вредности. Овај образац одговора је био присутан и у третираним и у нетретираним групама, али је важно напоменути да GLP-1 агонисти могу утицати на интензитет и трајање овог одговора, што је највероватније допринело тренду смањења гликемије у третираним групама током времена. Ови резултати указују на то да GLP-1 агонисти могу позитивно утицати на метаболизам глукозе и контролу гликемије, али да је њихов ефекат израженији у дугорочном третману, што се поклапа са клиничким подацима о ефикасности ових лекова у лечењу дијабетеса типа 2 (83,135).

5.3 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ЛИПИДНИ СТАТУС

Имајући у виду да је МетС сложен поремећај и да су липидни параметри (триглицериди и холестерол) један од кључних елемената у дијагнози метаболичког синдрома, настојали смо да свеобухватно сагледамо његове карактеристике као и утицај агониста GLP-1R на липидни статус. Поред претходно наведених параметара, у овом истраживању, поред праћења гликемије и инсулина, пажњу смо посветили и процени липидног статуса, мерењем нивоа триглицерида и укупног холестерола, који су индикатори дислипидемије, карактеристичне за метаболички синдром. У нашој студији вредности укупног холестерола биле су значајно ниже у групама третираним лираглутидом и семаглутидом у односу на МетС групу (График 7А). Ова разлика указује на позитиван ефекат агониста GLP-1R на липидни статус, што је у складу са ранијим истраживањима која су потврдила благотворан утицај ових лекова на смањење холестерола у крви (136,137). Поред тога, семаглутид је показао значајније смањење вредности укупног холестерола у поређењу са ексенатидом, што сугерише да семаглутид може бити ефикаснији у контроли липидног дисбаланса код пацијената са метаболичким синдромом (График 7А). Значајан резултат наше студије је што је показано да постоје разлике у ефектима агониста GLP-1R на липидни профил, што треба узети у обзир при избору терапије за пацијенте са метаболичким синдромом.

У нашој студији забележене су и значајно повишене вредности триглицерида у МетС групи, што је у складу са познатим метаболичким поремећајима који прате ову болест јер је повишен ниво триглицерида један од најзначајнијих показатеља липидног дисбаланса. Очекивано, третман агонистима GLP-1R у довео је до значајног снижења вредности триглицерида у свим испитиваним групама. Међутим, приликом поређења експерименталних група, јасно се уочава да су највише вредности триглицерида забележене у групи третираној ексенатидом, што може указивати на његову мању ефикасност у контроли овог параметра у поређењу са лираглутидом, семаглутидом и дулаглутидом.

Добијени резултати липидног профила су у складу са резултатима претходних студија, што указује на више могућих механизма који објашњавају утицај агониста GLP-1R на метаболизам липида. Једно од могућих објашњења је да GLP-1 рецепторски агонисти могу да доведу до смањеног апетита и унос хране, па самим тим и индиректно утичу на метаболизам липида. Другим речима, смањење уноса калорија може резултовати значајним побољшањем липидног профила, што је у складу са резултатима нашег истраживања где су агонисти GLP-1R показали позитиван ефекат на смањење укупног холестерола и триглицерида (138). објашњење, које је подржано резултатима бројних студија, указује на директан ефекат GLP-1 на липидни метаболизам у јетри. Наиме, сигнализација која је посредована GLP-1R у јетри доводи до смањења синтезе VLDL и триглицерида, као и до смањења садржаја триглицерида у хепатоцитима. Овај механизам укључује регулацију активности ензима који играју кључну улогу у метаболизму липида, чиме се ограничава *de novo* липогенеза и побољшава оксидација масних киселина (139). На овај начин се смањује нагомилавање масти у јетри и ризик од развоја стеатозе или других метаболичких поремећаја који су чести код метаболичког синдрома (140). Поред тога, GLP-1 агонисти активирају циклични аденозин монофосфат (сАМР) у јетри, што покреће каскаду реакција које доводе до фосфорилације сАМР-активираних протеин киназа (АМРК). АМРК представља значајан инхибитор липогенезе и доводи до смањења синтезе масти у јетри (141,142). Овакав механизам помаже у побољшању липидног метаболизма, јер смањује синтезу нових масних киселина и побољшава њихову оксидацију.

Такође, истраживања спроведена на дијабетичним пацовима показала су да лираглутид значајно смањује концентрације укупног холестерола и триглицерида у серуму. Овај ефекат се остварује кроз подстицање реверзног транспорта холестерола у хепатоцитима, што омогућава бољу регулацију липидног метаболизма. Реверзни транспорт холестерола је процес у којем се холестерол из периферних ткива враћа у јетру где се прерађује и елиминише. Овакав механизам смањује акумулацију масти у јетри и смањује ризик за развој метаболичких поремећај, попут неалкохолне стеатозе јетре, која је веома честа код пацијената са метаболичким синдромом и дијабетесом тип 2 (143,144).

Наши резултати, посебно у групи третираној ексенатидом, показали су одступања од резултата других студија, што указује на могућност различитих механизма деловања и различите реакције на терапију. На пример, у студији *Xi F* и сарадника четворонедељни третман ексенатидом довео је до значајног побољшања липидног профила гојазних мишева, укључујући смањење нивоа укупног холестерола, триглицерида и слободних масних киселина у серуму, као и до значајног смањења телесне масе (145). Међутим, наши резултати у групи третираној ексенатидом нису показали исте ефекте, што може бити последица неколико фактора, као што су различити режими примене лека, модел болести који смо користили, као и врсте животиња укључених у наше истраживање. На пример, могуће је да различите дозе, учесталост примене или трајање лечења играју значајну улогу у изазивању различитих ефеката на липидни метаболизам. Поред тога, студија *Hoffman*-а и сарадника указује да GLP-1 агонисти не утичу само на јетру или преко редукције апетита, већ имају и друге значајне механизме деловања који укључују црева и централни нервни систем. У овој студији, аутори су показали да примена агониста GLP-1R у порталну вену смањује апсорпцију масти у цревима и продукцију хиломикрона, што је регулисано преко вагусног нерва, односно кроз вагусно-мождано-јетрену осовину (146). Ови резултати указују на комплексност механизма деловања GLP-1, који обухватају системске, али и локалне ефекте на липидни метаболизам, што отежава разумевање њиховог утицаја на различите аспекте метаболизма. Управо због тога, неопходна су додатна истраживања како би се прецизније разумели сви аспекти деловања лекова из ове групе на метаболичке параметре.

5.4 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА СИСТЕМСКИ ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС

Због познате везе између оксидационог стреса и MetC-а где је акумулација оксидационих ензима повезана са мултифакторијалном етиологијом болести циљ нам је био да проценимо како GLP-1 агонисти утичу на биомаркере оксидационог стреса.

Вредности TBARS и NO_2^- нису се значајно промениле (График 8). Са друге стране, у третираним групама, вредности O_2^- су биле значајно ниже, са најизраженијим смањењем у групама које су добијале лираглутид, ексенатид и семаглутид. Обзиром да супероксид анјон (O_2^-), представља једну од примарних реактивних кисеоничних врста, која настаје као нуспроизвод митохондријалне активности и индукује апоптозу ћелије, овај је резултат је изузетно важан. У физиолошким условима, O_2^- се брзо неутралише активностима антиоксидативних ензима, међу којима је ензим SOD кључан (147). SOD конвертује O_2^- у водоник-пероксид (H_2O_2), који се даље разлаже каталазом или глутатион-пероксидазом у воду, чиме се спречава оштећење ћелијских структура). Када је активност SOD смањена, ниво O_2^- расте, што доводи до оштећења липида, протеина и ДНК, као и до погоршања ендотелне функције, инсулинске резистенције и инфламације (148). У контексту метаболичког синдрома, хиперактивност митохондрија, инфламација и активност NADPH оксидаза доводе до прекомерне продукције O_2^- , чиме се исцрпљују

резерве SOD. Наведене тврдње су у складу са нашим резултатима, који показују благо повишене вредности H_2O_2 и смањене вредности O_2^- , што указује на могућност да GLP-1 стимулишу повећану активност ензима супероксид дисмутазе, као што је приказано на Графику 9 (149). Када говоримо о нивоима SOD у третираним групама, можемо уочити да је вредност највиша у групи третираној семаглутидом у поређењу са осталим групама. У претходној студији семаглутид је показао изражен ефекат на редукцију параметара оксидационог стреса у DOX-индукованој нефротоксичности. Терапија семаглутидом такође је резултирала повећањем активности SOD и других кључних антиоксидативних ензима али уз истовремено смањење липидне пероксидације (150). Механизам који објашњава ове резултате лежи у способности семаглутида да активира два кључна сигнална пута Nrf (engl. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*; нуклеарни фактор повезан са еритроидом 2, фактор 2) и SIRT1. Активирањем Nrf2 повећава се транскрипција гена који кодирају антиоксидативне ензиме, укључујући супероксид дисмутазу (SOD), глутатион пероксидазу и глутатион S-трансферазу. Међутим, семаглутид такође повећава експресију и активност SIRT1 (sirtuin 1), ензима који игра важну улогу у регулацији метаболичке хомеостазе и оксидативног стреса. SIRT1 делује као деацетилаза, што доводи до активирања Nrf2, чиме се појачавају антиоксидативни механизми. Поред тога, SIRT1 побољшава митохондријалну функцију смањењем ROS продукције и побољшањем митохондријалне биогенезе (150,151). Још једно могуће објашњење, које је у складу са резултатима ове студије, односи се на предност преласка на терапију семаглутидом у облику инјекција у односу на континуирану терапију дулаглутидом (152). Наиме, семаглутид у дози од 0,5 mg недељно постиже веће циркулишуће концентрације GLP-1 у поређењу са дулаглутидом у дози од 0,75 mg недељно (153). Повећана доступност GLP-1 може имати значајну улогу у редукцији оксидативног стреса, што семаглутиду даје предност у овој области. Захваљујући повољном фармакокинетичком профилу, семаглутид се показао ефикаснијим у смањењу оксидативног стреса у односу на друге агонисте GLP-1R (154). Поред SOD, мерили смо и вредности каталазе као један од најзначајнијих антиоксидативних ензима у организму. Она се налази углавном у пероксизомима, где разграђује водоник-пероксид у воду и кисеоник ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) (155). Каталаза преузима значајнију улогу у разградњи H_2O_2 када његова концентрација порасте. H_2O_2 , као стабилна реактивна кисеонична врста, може да се дифундује од места настанка, стварајући концентрацијски градијент који може утицати на различите ћелијске делове. У кардијалним митохондријама, експресија каталазе се повећава код исхране богате мастима како би се уклонио вишак H_2O_2 произведен током појачаног липидног метаболизма (156,157). У нашој студији, иако су вредности САТ биле значајно повећане у третираним групама (График 9В), није уочен одговарајући утицај на концентрацију H_2O_2 . Овај налаз је у супротности са претходно наведеним резултатима и са неким ранијим истраживањима, што указује на могућност постојања додатних фактора који утичу на разградњу H_2O_2 . Овакав резултат можемо објаснити чињеницом да у нашој студији вредности H_2O_2 нису показале значајне разлике између третираних и нетретираних група. Ово сугерише да каталаза, као ензим који постаје активан углавном у условима високих концентрација H_2O_2 , није имала „услове” за израженији утицај у овим експерименталним условима.

5.5 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА КРВНИ ПРИТИСАК

Артеријска хипертензија представља један од главних фактора ризика за КВБ и значајно доприноси морбидитету и морталитету. Има високу преваленцију у општој популацији и често се јавља у склопу МетС (158). Артеријска хипертензија у склопу МетС настаје садејством бројних фактора који су присутни код пацијената са овим

синдромом, укључујући инсулинску резистенцију, гојазност, повишену активност симпатичког нервног система и РААС, пораст запаљенских медијатора, као и опструктивну апнеју у сну (159).

Експериментална група пацова са МетС у нашој студији, имала је повишене вредности СКП које су перзистирале током целокупног шестонедељног експерименталног протокола, што је у складу са претходно објављеним истраживањима. Наиме, повишене вредности СКП забележене су код пацова са МетС-ом, независно од начина индукције овог синдрома (примена дијете богате шећером или масне дијете уз апликацију стрептозотоцина) (160,161).

Примена агониста GLP-1 рецептора у нашој студији показала је значајно снижење СКП након шест недеља третмана, у односу на почетне вредности. Овај ефекат је био уочљив у свим групама третираним агонистима GLP-1R, осим групи која је примала дулаглутид. Поред тога, сви агонисти GLP-1R који су коришћени у нашем истраживању (осим дулаглутида) довели су до значајног смањења СКП већ после три недеље примене, што указује на брзи почетак антихипертензивног ефекта. Показано је да агонисти GLP-1R имају бројне мултисистемске бенефите, укључујући и протективне ефекте које остварују у кардиоваскуларном систему (158). Међутим, резултати клиничких студија показали су различите ефекте агониста GLP-1R на крвни притисак. Наиме, у студији у којој је примењиван дулаглутид код пацијената са дијабетесом тип 2 примећено је благо повећање крвног притиска (162), док су студије са другим агенсима из ове класе лекова указале на смањење крвног притиска или је чак ефекат на вредности крвног притиска изостао (71,163,164). Међутим, у једној мета-анализи показано је да примена агониста GLP-1R доводи до снижења СКП у односу на плацебо и активну контролу, што је у складу са резултатима добијеним у нашој студији (165).

Антихипертензивна својства агониста GLP-1R могу се објаснити различитим механизмима, од којих је редукција телесне тежине, уочена током третмана овим агенсима, од посебног значаја (166). Међутим, како указују наши резултати и резултати других студија, агонисти GLP-1R могу да доведу до снижења вредности крвног притиска већ 2-4 недеље од почетка третмана, што указује да је њихов антихипертензивни ефекат највероватније независан од ефекта на телесну тежину (167–169). Студије на анималним моделима су показале да третман агонистима GLP-1R повећава ендотелијалну NO синтазе, (доводи до релаксације васкулатуре и смањења васкуларног ремоделовања као и смањења ендотелне дисфункције, васкуларне инфламације и артеријске крутости (170–172). Такође, неоспоран је ефекат GLP-1 агониста рецептора на натриурезу и диурезу, као и њихово дејство на смањење симпатичке активности (173–175). Имајући у виду све претходно наведено, агонисти GLP-1R остварују позитивне ефекте на артеријски крвни притисак највероватније садејством више молекуларних механизма, мада главни механизам одговоран за снижење крвног притиска током примене ових агенаса још увек није разјашњен.

Значај примене агониста GLP-1R у лечењу гојазности и МетС је претходних година предмет бројних научних дебата. *Rameshrad* са сарадницима је указао на могућност примене агониста GLP-1R у лечењу МетС, уз претходну неопходност спровођења дугорочних рандомизованих клиничких испитивања (176). Штавише, током ове године, експерти Корејског Удружења за хипертензију су изразили снажан став о разматрању увођења нових терапијских стратегија, укључујући агонисте GLP-1R, за превенцију КВБ и лечење хипертензије код пацијената који болују од гојазности (166).

5.6 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА *IN VIVO* ФУНКЦИЈУ (ЕХОКАРДИОГРАФСКЕ ПАРАМЕТРЕ) СРЦА

МетС је препознат као један од главних фактора ризика за инвалидитет и морталитет повезан са кардиоваскуларним болестима, што је довело до експанзије интересовања за повезаност срчане патологије и метаболичке дисрегулације (177). У једној студији пресека показано је да МетС може довести до структурних промена миокарда, као што су повећање масе и пречника леве коморе (178). У великој кохортној студији са периодом праћења од 17 година, показано је да пацијенти са МетС-ом имају повишен ризик за развој срчане инсуфицијенције, што се посебно односило на пацијенте са гојазно-хипертензивним фенотипом (179).

Ехокардиографски преглед спроведен у нашој студији указао је на протективне ефекте агониста GLP-1R. У свим експерименталним групама третираним овим агенсима примећује се смањење хипертрофије IVSd и LVPWd, док је значајно смањење хипертрофије IVSs примећено само у дулаглутид групи. Резултати студије која је укључивале пацијенте са срчаном инсуфицијенцијом и сниженом ејекционом фракцијом лечене лираглутидом или плацебом, указали су да 24-недељни третман овим агенсом није довео до значајног пораста EF леве коморе (180). Са друге стране, резултати експерименталних студија указују да је третман лираглутидом значајно смањио димензије леве коморе и повећао EF код пацова са хипертрофијом миокарда изазваном оптерећењем притиском (181). У нашој студији уочава се смањење LVIDs у свим експерименталним групама у односу на групу са МетС, док је семаглутид група имала изненађујуће веће димензије LVIDd у односу на МетС групу и групу пацова лечених дулаглутидом. Скорија истраживања су показала да агонисти GLP-1R превенирају развој срчане инсуфицијенције и смртни исход код пацијената са дијабетесом тип 2 (182,183). У нашој студији, значајно повећање EF забележено је само у дулаглутид групи у односу на МетС групу. Показано је да кардиопротективни ефекти агониста GLP-1R највероватније проистичу из њихове способности да побољшају хомеостазу калцијума, смање дисфункцију митохондрија и ублаже електричне абнормалности (184).

5.7 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ СРЦА

Истраживање исхемијско-реперфузионе повреде код метаболичког синдрома је од великог значаја јер МетС значајно повећава ризик од кардиоваскуларних болести и погоршава исход исхемијских догађаја. Компоненте МетС, као што су инсулинска резистенција, хронична инфламација и дислипидемија, доприносе појачаном оксидативном стресу и инфламаторним одговорима, чинећи срчано ткиво подложнијим оштећењима током исхемије и реперфузије. С обзиром на то да је исхемија миокарда најтежа последица недовољно третираног кардиоваскуларног обољења, у оквиру наше студије посебан акценат стављен је на истраживање утицаја агониста GLP-1R на *ex vivo* индуковану исхемијско-реперфузиону повреду код пацова са МетС.

Ex vivo процена функције срца потврдила је заштитни потенцијал агониста GLP-1R (График 11). Параметар максималне стопе пораста притиска у левој комори (dp/dt max) коришћен је као индиректни показатељ инотропних особина срца за процену контрактилности миокарда, док је релаксација срца оцењивана путем мерења минималне стопе промене притиска у левој комори (dp/dt min). У МетС групи dp/dt max и dp/dt min, били су значајно нижи у поређењу са групама које су третиране агонистима GLP-1R (График 12,13). Када говоримо о поређењу између третираних група, уочава се разлика у 1' минути реперфузије. У групи третираној лираглутидом вредности dp/dt max су значајно ниже у поређењу са групама третираним семаглутидом и ексенатидом, док су у

групи третираној семаглутидом вредности $dp/dt \min$ биле значајно ниже него у осталим третираним групама. Поред тога, први параметри у групи МетС били су значајно смањени, док су у третираним групама вредности $dp/dt \max$ и $dp/dt \min$ у последњем минуту реперфузије биле сличне почетним вредностима (График 12,13). Слично, SLVP је побољшан у групама третираним агонистима GLP-1R (График 14), док DLVP није значајно варирао између група, иако је био благо снижен у групи третираној семаглутидом (График 12). Сва четири лека коришћена у овом истраживању имали су позитиван утицај на опоравак срчане фреквенце након ИП повреде (График 15), док је овај ефекат на коронарни проток уочен само у групи третираној дулаглутидом. Неколико студија је показало кардиопротективне ефекте ексенатида (или његовог структурног аналога ексендин-4) у акутној примени пре исхемијско реперфузионе повреде (185,186). Механизми укључујући побољшање функције митохондрија, регулацију калцијума и ублажавање електричних поремећаја срца (184). Студија која се бавила електрофизиологијом срца указује на могућност агониста GLP-1R да смање ризик од настанка аритмија у исхемијским условима модулишући трајање акционог потенцијала и доприносећи стабилизацији срчаног ритма, вероватно кроз PKA (енгл. *Protein kinase A* - протеин киназа А)-посредовану активност јонских канала (187). Недавна студија је показала да дулаглутид, поред побољшања регулације глукозе, ефикасно спречава ремоделирање срца и срчану дисфункцију код мишева са ДМ (183). У клиничком испитивању које се бавило ефектима дулаглутида код пацијената са ДМ, дулаглутид је повећао активност али и број ендотелних прогениторних ћелија и азот-оксида (NO). Такође, смањење С-реактивног протеина (CRP), TNF- α и IL-6 додатно илуструје антиинфламаторна својства агониста GLP-1R, која играју кључну улогу у ублажавању исхемијско-реперфузионе повреде и ендотелне дисфункције (188). Сматра се да антиинфламаторни ефекат агониста GLP-1R потиче од смањења проинфламаторних цитокина, првенствено инхибицијом фосфорилације и нуклеарне транслокације NF- κ B, док други механизам подразумева повећање IL-10 у срцу (189,190). Према студији Birnbaum-а, главна заштитна улога агониста GLP-1R у исхемијском миокарду произилази из њихове способности да активирају протеинску киназу А путем cAMP-зависног механизма, али неке студије сугеришу одређене механизме кардиопротекције независне од GLP-1R (191,192). Поред PKA, улогу у ИП повреди има и PKG (енгл. *Protein kinase G* - протеин киназа G) која инхибира апоптозу кардиомиоцита, једне од кључних патофизиолошких промена. Управо овај механизам је и био предмет истраживања бројних студија, тачније повезаност различитих агониста GLP-1R и PKG. На пример, Qiuхia и сарадници су утврдили да је семаглутид редуковао исхемијску зону код инфаркта миокарда, снизио нивое hs-cTNT (енгл. High-sensitivity cardiac troponin T - високоосетљиви срчани тропонин T), повећао концентрацију NT-proBNP (енгл. N-terminal pro b-type natriuretic peptide - N-терминални про-B тип натриуретичког пептида) и тиме значајно сузбио апоптозу кардиомиоцита (96). Лираглутид је испитивао Lee са сарадницима на моделу плућне артеријске хипертензије и у својој студији је показао способност лираглутида да повећа експресију eNOS (енгл. *Endothelial nitric oxide synthase* - ендотелијална азот-моноксида синтаза) и sGC (енгл. *Soluble guanylate cyclase* - растворљива гванилат циклаза) и подстиче синтезу cGMP-а (енгл. *Cyclic guanosine monophosphate* - циклични гуанозин монофосфат), што доводи до активације PKG пута (193). Такође, Chen и сарадници су показали да ексендин-4 побољшава функцију срца код пацова са срчаном инсуфицијенцијом након инфаркта миокарда активирајући eNOS/cGMP/PKG сигнални пут (104).

5.8 ЕФЕКТИ ПРИМЕНЕ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ВРЕДНОСТИ БИОМАРКЕРА ОКСИДАЦИОНОГ СТРЕСА У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ

Због познате везе између оксидативног стреса, МетС и ИР повреде, циљ нам је био да проценимо како агонисти GLP-1R утичу на коронарне биомаркере оксидационог стреса. Мерење прооксиданаса у коронарном венском ефлуенту представља поуздан индикатор оксидативног стреса како у ендокардијуму леве коморе, тако и у целокупној срчаној циркулацији. У нашој студији, анализа резултата унутар испитиваних група показала је повишене концентрације NO₂⁻ у групама третираним лираглутидом и семаглутидом, посебно при поређењу вредности на крају стабилизације и крају реперфузије (График 18Б). Са друге, ове вредности су значајно више у целом периоду реперфузије у групи третираној семаглутидом у односу на МетС групу (График 20Г), док је на крају реперфузије статистичка значајност уочена у дулаглутид групи (График 20В). У групи третираној ексенатидом, вредности O₂⁻ показале су пад на крају протокола реперфузије у односу на крај периода стабилизације, са константним смањењем током целокупног периода реперфузије. С друге стране, у групи третираној лираглутидом забележен је занимљив резултат – вредности O₂⁻ су у 1. минуту реперфузије нагло порасле, да би на крају протокола опале испод нивоа измереног на крају периода стабилизације. Такође вредности O₂⁻ у коронарном ефлуенту биле су значајно ниже у срцима третираним агонистима GLP-1R током последњег минута стабилизације и реперфузије у поређењу са МетС групом. Међутим, овај ефекат није уочен у семаглутид групи, где су вредности O₂⁻ биле више у односу на остале третиране групе, док у поређењу са МетС групом није било значајних разлика (График 21). Када је реч о ослобађању H₂O₂, у МетС групи уочено је значајно смањење вредности на крају реперфузије у поређењу са крајем стабилизационог периода и 1. минута реперфузије. Насупрот томе, у групи третираној дулаглутидом примећена је супротна тенденција – вредности овог параметра биле су више на крају реперфузије него на крају периода стабилизације али и 1. минута реперфузије (График 18Г). Вредности H₂O₂ у срцима пацова третираним агонистима GLP-1R биле су ниже на крају периода стабилизације, изузев у групи са семаглутидом. Током реперфузије, вредности су показале тенденцију пораста, при чему је статистички значајан пораст забележен у групи која је била на хроничном третману дулаглутидом. У поређењу са групама третираним ексенатидом и дулаглутидом, вредности H₂O₂ у групи са лираглутидом биле су ниже (График 22Д).

Због повећаних вредности H₂O₂ и смањених вредности O₂⁻ нивоа можемо претпоставити да испитивани лекови индицирају повећану ендотелну и кардиомиоцитну активност SOD. Ова претпоставка је у складу са претходним налазима да ексенатид повећава нивое SOD и чува митохондријски мембрански потенцијал у *in vitro* моделу хипоксије/реоксигенације H9c2 ћелија (149). Друга студија која иде у прилог нашим резултатима и тврдњи је показала да ексендин-4 (аналог ексенатида) ублажава оксидативни стрес у срцу код мишева са T2D инхибицијом NADPH оксидазе 4 праћеном повећаном активношћу SOD-1 и глутатион пероксидазе (194). Истраживање на хуманим вентрикуларним кардиомиоцитним ћелијама (AC16) показало је да ексендин-4, као један од представника агониста GLP-1R, има способност да смањи оксидациони стрес, побољша митохондријску мрежу и спречи апоптозу (195). Слично томе, лираглутид, други агониста GLP-1R, показао је повољан утицај на оксидациони стрес изазван TNF-α у хуманим ендотелијалним ћелијама вене пупчане врпце (HUVECs), где је инхибирао активност NADPH оксидазе и повећао експресију антиоксидативних ензима као што су SOD, CAT и глутатион пероксидаза (196). Даље, експериментално испитивање на пацовима показало је да лираглутид ублажава срчану повреду изазвану изопреналином,

смањујући нивое оксидационог стреса и побољшавајући активности CAT и SOD. Овај третман је такође довео до смањења срчаних биомаркера, укључујући високо-сензитивни тропонин I, али и аспартат аминотрансферазу (AST) и аланин аминотрансферазу (ALT) (197). Осим директних антиоксидативних ефеката, агонисти GLP-1R доприносе побољшању срчаног метаболизма кроз више механизма. Они повећавају преузимање глукозе, стимулишу оксидацију масних киселина и оптимизују митохондријску функцију, што омогућава ефикаснију употребу енергије и додатно смањење оксидативног стреса у срчаним ткивима (198). Иако су подаци о ефектима дулаглутид на срчани оксидативни стрес ограничени, досадашња истраживања сугеришу да овај лек показује значајан потенцијал. На моделу срчаних H9c2 ћелија, дулаглутид је смањio оксидативни стрес изазван липополисахаридима (LPS) и повећао ниво редукваног глутатиона у срчаном ткиву, што указује на његове антиоксидативне и кардиопротективне ефекте (199). Слична студија је испитивала и лек семаглутид и његову улогу на моделу повреде миокарда изазване тренингом. Њихови резултати указују да хронична примена семаглутида може ефикасно повећати активност T-SOD *in vivo*, што последично утиче на смањење оксидативног стреса у миокардном ткиву. Имајући у виду да инфилтрација инфламаторних ћелија додатно повећава ниво ROS-а, а семаглутид делује путем механизма који укључује смањење упалног одговора активацијом AMPK пута, па сходно томе, може се закључити да је инхибиција оксидативног стреса уједно и резултат смањене експресије инфламаторних цитокина (95).

5.9 ЕФЕКТИ АГОНИСТА GLP-1 РЕЦЕПТОРА НА ХИСТОМОРФОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ

Истраживања агониста GLP-1R као што су ексенатид, лираглутид, дулаглутид и семаглутид, указала су на њихов значајан потенцијал на хистоморфолошке промене у више органа (62,200). Експерименти на животињским моделима пацова пружају драгоцене податке о антифибротском и антиинфламаторном дејству ових лекова, као и о заштити ћелија панкреаса, бубрега, јетре и кардиоваскуларног система. Узимајући у обзир све досадашње резултате и постојећа сазнања о агонистима GLP-1R, сматрали смо да је неопходно да комплетирамо утицај ових лекова на органе од кључног значаја за метаболички синдром. Стога смо решили и испитали њихове ефекте на панкреас, бубреге, јетру, као и кардиоваскуларни систем – укључујући аорту.

Резултати морфометријске и хистолошке анализе срца, аорте и колагених влакана недвосмислено указују на повољне ефекте агониста GLP-1R у контексту метаболичког синдрома. На основу података добијених мерењем површине попречног пресека кардиомиоцита, садржаја колагених влакана, као и дебљине зида аорте, видљиво је да су сви испитивани агонисти GLP-1R (ексенатид, лираглутид, дулаглутид, семаглутид) допринели смањењу патолошких промена у срчаном и васкуларном ткиву у односу на нетретиране MetC животиње. У групи нетретираних MetC пацова, уочени су хипертрофија кардиомиоцита, изражена инфламација са ћелијским инфилтратом, проширен интерстицијумски простор и таласаста влакна (Слика 4). Ове карактеристике представљају типичне промене код метаболичког синдрома, у којем хронична хипергликемија и инсулинска резистенција подстичу ремоделовање срца и упалне реакције (201). Примењени агонисти GLP-1R довели су до статистички значајног смањења величине (површине) кардиомиоцита са најизраженијим ефектом у групи третираној дулаглутидом (смањење за 18%). Ови подаци су у складу са претходним налазима да агонисти GLP-1R могу смањити оксидативни стрес и упалну реакцију у миокарду, чиме ублажавају хипертрофију кардиомиоцита и структурне промене (96).

Клиничка студија LEADER (*Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of Cardiovascular Outcome Results*) показала је да лираглутид смањује ризик од кардиоваскуларних догађаја, што може бити повезано и са побољшаним морфолошким и функционалним карактеристикама миокарда (164). Сличан закључак произилази из програма SUSTAIN, који је указао на позитиван утицај семаглутида на кардиоваскуларни ризик (163). Такође, прекомерно нагомилавање колагених влакана у миокарду ограничава еластичност срчаног мишића и доводи до фиброзе, која се клинички може манифестовати поремећајем дијастолне функције (202). У МетС групи, анализа *Picro-Sirius Red* бојењем показала је изражене депозите колагених влакана, са грубим, увезаним структурама. Насупрот томе, у свим осталим третираним групама количина колагена знатно је смањена а највеће смањење уочено је у групи дулаглутид (68%), лираглутид (66%), семаглутид (64%) док је ексенатид имао нешто слабији али и даље значајан ефекат (53%). Ови налази се могу довести у везу са инхибицијом TGF- β /Smad3 пута и повећањем експресије матрикс металопротеиназе 9 (MMP-9), што поспешује разградњу вишка колагена (203,204). У недавном раду *Sharma* и сарадника, ексенатид је показао да побољшава дијастолну функцију срца и смањује колагенску фиброзу код пацова са МетС (205). Ово је потврђено и у већој клиничкој студији EXSCEL, где се код пацијената третираних ексенатидом бележи успорена прогресија миокардне фиброзе (71). У нетретираној МетС групи, дебљина зида аорте била је знатно повећана, са неравномерним атеросклеротским изменама, што је и очекивано и у складу са претходним студијама јер хипертензија и атеросклероза као коморбидитети метаболичког синдрома, често су праћени задебљањем зида аорте и развојем атеросклеротских плакова (206,207). С друге стране, у третираним групама уочили смо статистички значајно смањење дебљине зида аорте са најизраженијим ефектом у семаглутид групи (27%). Ове промене могу бити последица редукције инфламације, оксидативног стреса и дисфункције ендотела, што је више студија потврдило као примарни механизам антиатерогеног дејства агониста GLP-1R (60,100). У испитивању AWARD (*Assessment of Weekly Administration of Dulaglutide*), дулаглутид је показао значајна побољшања кардиометаболичких параметара и смањење атеросклеротских компликација, што одговара налазима о његовом утицају на дебљину зида аорте у нашој студији иако је од испитиваних лекова имао најмањи утицај (22%) (График 25) (208).

Промене на микрофотографијама пресека ткива јетре животиња са МетС су у складу са подацима да метаболички синдром, уз хипергликемију и инсулинску резистенцију, често прати и накупљање липида и инфламацију у јетри, што доводи до почетних знакова стеатозе или стеатохепатитиса (144,209). С друге стране, у групама које су биле третиране агонистима GLP-1R (ексенатид, дулаглутид, лираглутид, семаглутид), уочене су сличне структурне промене попут вакуолизације појединих хепатоцита, али без присуства инфламаторних ћелијских инфилтратата (Слика 5). Иако је и даље присутна мања вакуолизација, изостанак инфламације може указивати да агонисти GLP-1R ублажавају реакције инфламације и ремоделовање у јетри (210,211). Овај налаз је у корелацији са претходним истраживањима у којима је показано да агонисти GLP-1R могу да редукују оксидативни стрес, смање масну дегенерацију хепатоцита и инхибирају факторе инфламације (TNF- α , IL-1 β), што спречава даљи развој неалкохолног стеатохепатитиса (NASH) (144).

Иако су агонисти GLP-1R показали потенцијал да смање липидне наслаге и запаљење, вакуолизација хепатоцита може указивати на остатак метаболичких поремећаја који нису у потпуности елиминисани током периода експерименталног третмана. Међутим, у односу на нетретирану МетС групу, морфолошки изглед јетре је знатно повољнији – без израженог запаљења и са мањим оштећењима паренхима.

Када говоримо хистолошким карактеристика бубрега, промене уочене на Слици 8. као што су атрофија гломерула и десквamacија епитела, су резултат хроничне хипергликемије, оксидационог стреса и различитих упалних процеса који су честа карактеристика МетС (212). Код група животиња које су биле третиране различитим агонистима GLP-1R (ексенатид, дулаглутид, лираглутид, семаглутид), запажене су мање изражене патолошке промене. Код животиња на терапији дулаглутидом, гломерули су очуване грађе и није уочен проширен уринарни простор, али је десквamacија епитела тубула и даље присутна. Неколико клиничких испитивања сугерише да дулаглутид побољшава бубрежну функцију смањењем протеинурије и успоравањем погоршања eGFR-а, што је у складу са нашим запажањима о очуваној структури гломерула (213,214). Иако су бројне студије показале нефропротективни ефекат лираглутида (нпр. смањење албуминурије и побољшање структурног интегритета гломерула) наши резултати упућују на мање повољан ефекат у појединим аспектима бубрежне хистоморфологије као што је проширен интерстицијумски простор и атрофија појединачних гломерула (164,215). У групи животиња третираних семаглутидом, гломерули су очувани, без проширених интерстицијумских простора, а десквamacија епитела тубула је слабо изражена. Ово одговара недавним подацима о семаглутиду који указују на његов позитиван утицај на бубрежну функцију и успоравање нефропатије код пацијената са дијабетесом (216,217). Посматрано у целини, сви агонисти GLP-1R испитавани у нашој студији показали су бар делимичну нефропротекцију у односу на нетретирану МетС групу. Ипак, ексенатид и семаглутид показују израженије очување гломерула (без атрофије), док дулаглутид смањује проширење уринарног простора, али одређени степен оштећења тубуларног епитела остаје видљив. Лираглутид, иначе један од добро проучених агониста GLP-1R, у овом моделу није у потпуности спречио атрофију гломерула.

На основу хистоморфолошких анализа панкреаса на Слици 9. можемо закључити да, ексенатид и дулаглутид смањују инфламаторне процесе, али не у потпуности и депозите масних капљица. Насупрот томе, лираглутид и семаглутид показују знатно боље „чишћење“ ткива панкреаса од масних наслага, поред тога што сузбијају и инфламаторне промене. Механизам деловања свих агониста GLP-1R укључује побољшање инсулинске секреције и смањење глукaгонске секреције, али се они могу разликовати у погледу фармакокинетики и додатних ефеката на телесну тежину и липидни метаболизам (137,216). На пример, лираглутид и семаглутид имају снажнији утицај на смањење телесне масе и побољшање липидног профила, што може бити пресудно за уклањање масних капљица из паренхима панкреаса (130,216,217). Ексенатид и дулаглутид, према неким студијама, мање утичу на губитак килограма, па је могуће да због тога постоји одређени остатак липидних наслага (137,216,218). Ипак, сва четири испитивана лека ефикасно смањују инфламацију, што је кључно за одржавање функционалности β -ћелија и спречавање погоршања метаболичког синдрома и развоја дијабетеса.

VI

ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

Полазећи од резултата остварених у оквиру овог истраживања и ослањајући се на постојећа сазнања из литературе, могу се извући следећи главни закључци:

- Продужена, шестонедељна примена агониста GLP-1R код пацова са метаболичким синдромом довела је до повољне контроле телесне масе и BMI. Нарочито се истиче семаглутид, чија је моћ регулације телесне тежине најизраженија.
- Сва четири агониста GLP-1R су знатно снизила вредности глукозе у крви, истовремено обезбеђујући и адекватан инсулински одговор на унос глукозе. Ови налази су у складу са бројним студијама које указују на значај GLP-1 у унапређењу метаболичких параметара и побољшању гликорегулације код дијабетеса и метаболичког синдрома.
- Уочено је да сви примењивани агонисти GLP-1R утичу на ниво триглицерида, док је ефекат на укупан холестерол израженији код лираглутида и семаглутида. С друге стране, ексенатид је показао нешто мањи утицај на снижење триглицерида од осталих примењиваних лекова, што сугерише специфичне ефекте на метаболизам липида.
- Шестонедељни третман агониста GLP-1R узроковао је повољне промене у систему редокс равнотеже, с нагласком на редукцију супероксид анјон радикала и повећање активности супероксид дисмутазе и каталазе. Посебно се истиче семаглутид, који је исказао највећи утицај на смањење проксидативних фактора, вероватно захваљујући свом снажном ефекту на активацију антиоксидативних ензима.
- Сви испитивани лекови смањили су систолни крвни притисак након шест недеља примене и побољшали ехокардиографске показатеље, нарочито у погледу структуре и функције леве коморе. Ови резултати сугеришу да агонисти GLP-1R могу пружити мултисистемску заштиту, ублажавајући ризик од хипертензије у контексту метаболичког синдрома.
- Примењени агонисти GLP-1R побољшали су контрактилну и релаксациону снагу миокарда у условима исхемијско-реперфузионе повреде и спречили погоршање коронарне васкуларне дисфункције. Нарочито су се дулаглутид и семаглутид издвојили својим снажнијим ефектима на реституцију кардиодинамичких параметара.
- Третман агонистима GLP-1R омогућио је значајно смањење продукције прооксиданаса у условима исхемијско-реперфузионе повреде, чиме је ублажена штета по миокард. Овај налаз додатно потврђује улогу ових лекова у регулацији редокс равнотеже, што је кључни аспект у превенцији дугорочног оштећења срца.
- Агонисти GLP-1R ублажили су морфолошка оштећења кардиоваскуларног система настала у контексту метаболичког синдрома и исхемијско-реперфузионе повреде. Додатно, забележен је повољан ефекат на структуру јетре, бубрега и панкреаса у свим третираним групама. Најизраженији позитиван утицај на очување органске архитектонике уочен је код дулаглутида и семаглутида, што упућује на њихов могући виши терапијски домет.

У целини, налази ове студије пружају уверљиве доказе да GLP-1 агонисти имају значајан терапијски потенцијал у ублажавању метаболичких и кардиоваскуларних компликација повезаних са метаболичким синдромом. Захваљујући свом утицају на

контролу гликемије, смањење липотоксичности, редукцију оксидационог стреса и побољшање кардиоваскуларне функције, ови лекови могу допринети не само у превенцији далекосежних последица МетС, већ и побољшати квалитет живота пацијената. Ипак, потребне су додатне студије које би расветлиле оптимално дозирање, дужину терапије и могуће синергистичке ефекте агониста GLP-1R у комбинацији са другим фармаколошким агенсима, нарочито у контексту разноликог клиничког фенотипа метаболичког синдрома.

VII

РЕФЕРЕНЦЕ

7. РЕФЕРЕНЦЕ

1. Khan MA, Hashim MJ, Mustafa H, Baniyas MY, Al Suwaidi SKBM, AlKatheeri R, et al. Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: Results from the Global Burden of Disease Study. *Cureus* [Internet]. 2020 Jul 23
2. Muscogiuri G, Annweiler C, Duval G, Karras S, Tirabassi G, Salvio G, et al. Vitamin D and cardiovascular disease: From atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *International Journal of Cardiology*. 2017 Mar;230:577–84.
3. Fan J, Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathology International*. 2022 Mar;72(3):151–60.
4. Hansson GK. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2009 Jul;7:328–31.
5. Gill J. The Pathophysiology and Epidemiology of Myocardial Infarction: A Review. *Drugs*. 1991;42(Supplement 2):1–7.
6. Harrington DH, Stueben F, Lenahan CM. ST-Elevation Myocardial Infarction and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction. *Critical Care Nursing Clinics of North America*. 2019 Mar;31(1):49–64.
7. Frangogiannis NG. Pathophysiology of Myocardial Infarction. In: Terjung R, editor. *Comprehensive Physiology* [Internet]. 1st ed. Wiley; 2015 [cited 2025 Jan 16]. p. 1841–75. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c150006>
8. Wong DTL, Puri R, Richardson JD, Worthley MI, Worthley SG. Myocardial ‘no-reflow’ — Diagnosis, pathophysiology and treatment. *International Journal of Cardiology*. 2013 Sep;167(5):1798–806.
9. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *N Engl J Med*. 2013 Apr 4;368(14):1279–90.
10. Martínez-Sánchez C, Arias-Mendoza A, González-Pacheco H, Araiza-Garaygordobil D, Marroquín-Donday LA, Padilla-Ibarra J, et al. Reperfusion therapy of myocardial infarction in Mexico: A challenge for modern cardiology. *Archivos de Cardiología de México*. 2017 Apr;87(2):144–50.
11. Widimsky P, Coram R, Abou-Chebl A. Reperfusion therapy of acute ischaemic stroke and acute myocardial infarction: similarities and differences. *European Heart Journal*. 2014 Jan 1;35(3):147–55.
12. Saito Y, Oyama K, Tsujita K, Yasuda S, Kobayashi Y. Treatment strategies of acute myocardial infarction: updates on revascularization, pharmacological therapy, and beyond. *Journal of Cardiology*. 2023 Feb;81(2):168–78.

13. Ibáñez B, Heusch G, Ovize M, Van De Werf F. Evolving Therapies for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015 Apr;65(14):1454–71.
14. Mohan Rao PS, Simha PP. Myocardial Preservation: Controlled Reperfusion. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2011 Dec;23(4):318–21.
15. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest*. 1985 Nov;76(5):1713–9.
16. Prag HA, Murphy MP, Krieg T. Preventing mitochondrial reverse electron transport as a strategy for cardioprotection. *Basic Res Cardiol*. 2023 Aug 28;118(1):34.
17. Sorby-Adams A, Prime TA, Miljkovic JL, Prag HA, Krieg T, Murphy MP. A model of mitochondrial superoxide production during ischaemia-reperfusion injury for therapeutic development and mechanistic understanding. *Redox Biology*. 2024 Jun;72:103161.
- 7 18. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biology*. 2015 Dec;6:524–51.
19. Pittas K, Vrachatis DA, Angelidis C, Tsoucalas S, Giannopoulos G, Deftereos S. The Role of Calcium Handling Mechanisms in Reperfusion Injury. *CPD*. 2019 Jan 22;24(34):4077–89.
20. Oliveira MABD, Brandi AC, Santos CAD, Botelho PHH, Cortez JLL, Goissis G, et al. The calcium paradox - What should we have to fear? *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular* [Internet]. 2014 [cited 2025 Jan 16]; Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1678-9741.20140054>
- 8 21. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radical Biology and Medicine*. 2018 Mar;117:76–89.
22. Morciano G, Bonora M, Campo G, Aquila G, Rizzo P, Giorgi C, et al. Mechanistic Role of mPTP in Ischemia-Reperfusion Injury. In: Santulli G, editor. *Mitochondrial Dynamics in Cardiovascular Medicine* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [cited 2025 Jan 16]. p. 169–89. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 982). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-55330-6_9
23. Mendoza A, Patel P, Robichaux D, Ramirez D, Karch J. Inhibition of the mPTP and Lipid Peroxidation Is Additively Protective Against I/R Injury. *Circulation Research*. 2024 May 10;134(10):1292–305.
- 8 24. Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*. 2014 Jul;94(3):909–50.
25. Madungwe NB, Zilberstein NF, Feng Y, Bopassa JC. Critical role of mitochondrial ROS is dependent on their site of production on the electron transport chain in ischemic heart. *Am J Cardiovasc Dis*. 2016;6(3):93–108.

-
26. ⁵ Algoet M, Janssens S, Himmelreich U, Gsell W, Pusovnik M, Van Den Eynde J, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation. *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2023 Aug;33(6):357–66.
27. Yao Y, Li F, Zhang M, Jin L, Xie P, Liu D, et al. Targeting CaMKII- δ Ameliorates Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury by Inhibiting Myocardial Inflammation. *Circulation Research*. 2022 Mar 18;130(6):887–903.
28. ⁹ Tune JD, Goodwill AG, Sassoon DJ, Mather KJ. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Translational Research*. 2017 May;183:57–70.
29. Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018 Feb;20(2):12.
30. Engin A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. In: Engin AB, Engin A, editors. *Obesity and Lipotoxicity* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [cited 2025 Jan 16]. p. 1–17. (Advances in Experimental Medicine and Biology; vol. 960). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-48382-5_1
31. Clearfield M, Pearce M, Nibbe Y, Crotty D, Wagner A. The “New Deadly Quartet” for Cardiovascular Disease in the 21st Century: Obesity, Metabolic Syndrome, Inflammation and Climate Change: How Does Statin Therapy Fit into this Equation? *Curr Atheroscler Rep*. 2014 Jan;16(1):380.
32. Gupta A, Gupta V. Metabolic syndrome: what are the risks for humans? *Biosci Trends*. 2010 Oct;4(5):204–12.
33. ¹ McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology*. 2018 Jan;36(1):14–20.
34. Scuteri A, Laurent S, Cucca F, Cockcroft J, Cunha PG, Mañas LR, et al. Metabolic syndrome across Europe: Different clusters of risk factors. *Eur J Prev Cardiol*. 2015 Apr;22(4):486–91.
35. Samson SL, Garber AJ. Metabolic Syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2014 Mar;43(1):1–23.
36. Masenga SK, Kabwe LS, Chakulya M, Kirabo A. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *IJMS*. 2023 Apr 26;24(9):7898.
37. Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):881–7.
38. Monteiro R, Azevedo I. Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators of Inflammation*. 2010;2010:1–10.
39. Ferrannini E. Metabolic Syndrome: A Solution in Search of a Problem. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007 Feb 1;92(2):396–8.
-

40. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*. 2014;2014:1–21.
41. Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. Recent Advances in the Treatment of Insulin Resistance Targeting Molecular and Metabolic Pathways: Fighting a Losing Battle? *Medicina*. 2022 Mar 25;58(4):472.
42. Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Capó X, Bouzas C, Mateos D, Pons A, et al. Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants*. 2020 Mar 12;9(3):236.
43. Da Silva AA, Do Carmo JM, Li X, Wang Z, Mouton AJ, Hall JE. Role of Hyperinsulinemia and Insulin Resistance in Hypertension: Metabolic Syndrome Revisited. *Canadian Journal of Cardiology*. 2020 May;36(5):671–82.
44. Mottillo S, Filion KB, Genest J, Joseph L, Pilote L, Poirier P, et al. The Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 Sep;56(14):1113–32.
45. Pedro-Botet J, Ascaso JF, Barrios V, De La Sierra A, Escalada J, Millán J, et al. COSMIC project: consensus on the objectives of the metabolic syndrome in clinic. *DMSO*. 2018 Oct;Volume 11:683–97.
46. Čolak E, Pap D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. *J Med Biochemistry*. 2021;40(1):1–9.
47. Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017 Jan;482(3):419–25.
48. Touyz RM, Rios FJ, Alves-Lopes R, Neves KB, Camargo LL, Montezano AC. Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*. 2020 May;36(5):659–70.
49. Scioli MG, Storti G, D'Amico F, Rodríguez Guzmán R, Centofanti F, Doldo E, et al. Oxidative Stress and New Pathogenetic Mechanisms in Endothelial Dysfunction: Potential Diagnostic Biomarkers and Therapeutic Targets. *JCM*. 2020 Jun 25;9(6):1995.
50. Xu H, Li X, Adams H, Kubena K, Guo S. Etiology of Metabolic Syndrome and Dietary Intervention. *IJMS*. 2018 Dec 31;20(1):128.
51. Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. In: Prakash YS, editor. *Comprehensive Physiology* [Internet]. 1st ed. Wiley; 2013 [cited 2025 Jan 17]. p. 1–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c110062>
52. Di Daniele N, Noce A, Vidiri MF, Moriconi E, Marrone G, Annicchiarico-Petruzzelli M, et al. Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity. *Oncotarget*. 2017 Jan 31;8(5):8947–79.

-
53. Rajaram S, Damasceno NRT, Braga RAM, Martinez R, Kris-Etherton P, Sala-Vila A. Effect of Nuts on Markers of Inflammation and Oxidative Stress: A Narrative Review. *Nutrients*. 2023 Feb 22;15(5):1099.
54. Saibandith B, Spencer J, Rowland I, Commane D. Olive Polyphenols and the Metabolic Syndrome. *Molecules*. 2017 Jun 29;22(7):1082.
55. Chakhtoura M, Haber R, Ghezzawi M, Rhayem C, Tcheroyan R, Mantzoros CS. Pharmacotherapy of obesity: an update on the available medications and drugs under investigation. *eClinicalMedicine*. 2023 Apr;58:101882.
56. Morsali M, Poorolajal J, Shahbazi F, Vahidinia A, Doosti-Irani A. Pharmaceutical Therapies for the Treatment of Obesity: A Network Meta-analysis. *Clinical Therapeutics*. 2023 Jul;45(7):671–8.
57. Andrikou E, Tsioufis C, Andrikou I, Leontsinis I, Tousoulis D, Papanas N. GLP-1 receptor agonists and cardiovascular outcome trials: An update. *Hellenic Journal of Cardiology*. 2019 Nov;60(6):347–51.
58. Meier JJ. GLP-1 receptor agonists for individualized treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2012 Dec;8(12):728–42.
59. Rehfeld JF. The Origin and Understanding of the Incretin Concept. *Front Endocrinol*. 2018 Jul 16;9:387.
60. Müller TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Molecular Metabolism*. 2019 Dec;30:72–130.
61. Tomas A, Jones B, Leech C. New Insights into Beta-Cell GLP-1 Receptor and cAMP Signaling. *Journal of Molecular Biology*. 2020 Mar;432(5):1347–66.
62. Drucker DJ. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metabolism*. 2018 Apr;27(4):740–56.
63. Zheng J, Xie Y, Ren L, Qi L, Wu L, Pan X, et al. GLP-1 improves the supportive ability of astrocytes to neurons by promoting aerobic glycolysis in Alzheimer's disease. *Molecular Metabolism*. 2021 May;47:101180.
64. Tian Y, Tian R, Juan H, Guo Y, Yan P, Cheng Y, et al. GLP-1/GIP dual agonist tirzepatide normalizes diabetic nephropathy via PI3K/AKT mediated suppression of oxidative stress. *International Immunopharmacology*. 2025 Jan;146:113877.
65. Lee YS, Jun HS. Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism*. 2014 Jan;63(1):9–19.
66. Kabahizi A, Wallace B, Lieu L, Chau D, Dong Y, Hwang E, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) signalling in the brain: From neural circuits and metabolism to therapeutics. *British J Pharmacology*. 2022 Feb;179(4):600–24.
67. Drucker DJ. GLP-1 physiology informs the pharmacotherapy of obesity. *Molecular Metabolism*. 2022 Mar;57:101351.
-

68. Luna-Marco C, Iannantuoni F, Hermo-Argibay A, Devos D, Salazar JD, Victor VM, et al. Cardiovascular benefits of SGLT2 inhibitors and GLP-1 receptor agonists through effects on mitochondrial function and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 2024 Mar;213:19–35.
69. Zhou G, Wu H, Yang J, Ye M, Liu D, Li Y, et al. Liraglutide Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury Through the Inhibition of Necroptosis by Activating GLP-1R/PI3K/Akt Pathway. *Cardiovasc Toxicol* [Internet]. 2023 Mar 19 [cited 2025 Jan 17]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12012-023-09789-3>
70. Triplitt C, Chiquette E. Exenatide: From the Gila Monster to the Pharmacy. *Journal of the American Pharmacists Association*. 2006 Jan;46(1):44–55.
71. Holman RR, Bethel MA, Mentz RJ, Thompson VP, Lokhnygina Y, Buse JB, et al. Effects of Once-Weekly Exenatide on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2017 Sep 28;377(13):1228–39.
72. Zhao X, Wang M, Wen Z, Lu Z, Cui L, Fu C, et al. GLP-1 Receptor Agonists: Beyond Their Pancreatic Effects. *Front Endocrinol*. 2021 Aug 23;12:721135.
73. González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Robles-Cervantes JA, Ramos-Zavala MG. Effect of Exenatide on Fat Deposition and a Metabolic Profile in Patients with Metabolic Syndrome. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2011 Feb;9(1):31–4.
74. Laugero KD, Stonehouse AH, Guss S, Landry J, Vu C, Parkes DG. Exenatide Improves Hypertension in a Rat Model of the Metabolic Syndrome. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2009 Aug;7(4):327–34.
75. Sandsdal RM, Juhl CR, Jensen SBK, Lundgren JR, Janus C, Blond MB, et al. Combination of exercise and GLP-1 receptor agonist treatment reduces severity of metabolic syndrome, abdominal obesity, and inflammation: a randomized controlled trial. *Cardiovasc Diabetol*. 2023 Feb 25;22(1):41.
76. Fang J, Tang Y, Cheng X, Wang L, Cai C, Zhang X, et al. Exenatide alleviates adriamycin-induced heart dysfunction in mice: Modulation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Chemico-Biological Interactions*. 2019 May;304:186–93.
77. Iepsen EW, Torekov SS, Holst JJ. Liraglutide for Type 2 diabetes and obesity: a 2015 update. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2015 Jul 3;13(7):753–67.
78. Questions and answers. *Diabetes Obesity Metabolism*. 2009 Nov;11(s5):23–4.
79. Xiao S, Yang Y, Liu YT, Zhu J. Liraglutide Regulates the Kidney and Liver in Diabetic Nephropathy Rats through the miR-34a/SIRT1 Pathway. Okamoto H, editor. *Journal of Diabetes Research*. 2021 Apr 5;2021:1–12.
80. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *The Lancet*. 2016 Feb;387(10019):679–90.

81. Funch D, Mortimer K, Ziyadeh NJ, Seeger JD, Zhou L, Ng E, et al. Risk of Thyroid Cancer Associated with Use of Liraglutide and Other Antidiabetic Drugs in a US Commercially Insured Population. *DMSO*. 2021 Jun;Volume 14:2619–29.
82. Li SL, Wang ZM, Xu C, Che FH, Hu XF, Cao R, et al. Liraglutide Attenuates Hepatic Ischemia–Reperfusion Injury by Modulating Macrophage Polarization. *Front Immunol*. 2022 Apr 5;13:869050.
83. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. *Molecular Metabolism*. 2021 Apr;46:101102.
84. Shaefer CF, Kushner P, Aguilar R. User's guide to mechanism of action and clinical use of GLP-1 receptor agonists. *Postgraduate Medicine*. 2015 Nov 6;127(8):818–26.
85. Kawanami D, Takashi Y. GLP-1 Receptor Agonists in Diabetic Kidney Disease: From Clinical Outcomes to Mechanisms. *Front Pharmacol*. 2020 Jun 30;11:967.
86. Guan T, Xiao Y, Xie X, Meng N, Qi Q, Xu J, et al. Dulaglutide Improves Gliosis and Suppresses Apoptosis/Autophagy Through the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in Vascular Dementia Rats. *Neurochem Res*. 2023 May;48(5):1561–79.
87. Yang X, Qiang Q, Li N, Feng P, Wei W, Hölscher C. Neuroprotective Mechanisms of Glucagon-Like Peptide-1-Based Therapies in Ischemic Stroke: An Update Based on Preclinical Research. *Front Neurol*. 2022 Mar 15;13:844697.
88. Yang XD, Yang YY. Clinical Pharmacokinetics of Semaglutide: A Systematic Review. *DDDT*. 2024 Jun;Volume 18:2555–70.
89. Lewis AL, McEntee N, Holland J, Patel A. Development and approval of rybelsus (oral semaglutide): ushering in a new era in peptide delivery. *Drug Deliv and Transl Res*. 2022 Jan;12(1):1–6.
90. Frías JP, Davies MJ, Rosenstock J, Pérez Manghi FC, Fernández Landó L, Bergman BK, et al. Tirzepatide versus Semaglutide Once Weekly in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2021 Aug 5;385(6):503–15.
91. Trujillo J. Safety and tolerability of once-weekly GLP-1 receptor agonists in type 2 diabetes. *J Clin Pharm Ther*. 2020 Sep;45(S1):43–60.
92. Yang X, Feng P, Zhang X, Li D, Wang R, Ji C, et al. The diabetes drug semaglutide reduces infarct size, inflammation, and apoptosis, and normalizes neurogenesis in a rat model of stroke. *Neuropharmacology*. 2019 Nov;158:107748.
93. Zhang L, Zhang L, Li L, Hölscher C. Semaglutide is Neuroprotective and Reduces α -Synuclein Levels in the Chronic MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. *JPD*. 2019 Feb 5;9(1):157–71.
94. Atef MM, Hafez YM, El-Deeb OS, Basha EH, Ismail R, Alshenawy H, et al. The cardioprotective effect of human glucagon-like peptide-1 receptor agonist (semaglutide) on cisplatin-induced cardiotoxicity in rats: Targeting mitochondrial functions, dynamics,

- biogenesis, and redox status pathways. *Cell Biochemistry & Function*. 2023 Jun;41(4):450–60.
95. Li Q, Tuo X, Li B, Deng Z, Qiu Y, Xie H. Semaglutide attenuates excessive exercise-induced myocardial injury through inhibiting oxidative stress and inflammation in rats. *Life Sciences*. 2020 Jun;250:117531.
96. Zhu Q, Luo Y, Wen Y, Wang D, Li J, Fan Z. Semaglutide inhibits ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis through activating PKG/PKC ϵ /ERK1/2 pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2023 Mar;647:1–8.
97. Sahoo BM, Banik BK, Borah P, Jain A. Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies. *ACAMC*. 2022 Jan;22(2):215–22.
98. Belhadj Slimen I, Najar T, Ghram A, Dabbebi H, Ben Mrad M, Abdrabbah M. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *International Journal of Hyperthermia*. 2014 Nov;30(7):513–23.
99. Luna-Marco C, De Marañon AM, Hermo-Argibay A, Rodriguez-Hernandez Y, Hermenejildo J, Fernandez-Reyes M, et al. Effects of GLP-1 receptor agonists on mitochondrial function, inflammatory markers and leukocyte-endothelium interactions in type 2 diabetes. *Redox Biology*. 2023 Oct;66:102849.
100. Del Olmo García MI, Merino-Torres JF. GLP 1 receptor agonists, glycemic variability, oxidative stress and acute coronary syndrome. *Med Hypotheses*. 2020 Mar;136:109504.
101. Boshchenko AA, Maslov LN, Mukhomedzyanov AV, Zhuravleva OA, Slidnevskaya AS, Naryzhnaya NV, et al. Peptides Are Cardioprotective Drugs of the Future: The Receptor and Signaling Mechanisms of the Cardioprotective Effect of Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonists. *IJMS*. 2024 Apr 30;25(9):4900.
102. Mazzieri A, Basta G, Calafiore R, Luca G. GLP-1 RAs and SGLT2i: two antidiabetic agents associated with immune and inflammation modulatory properties through the common AMPK pathway. *Front Immunol*. 2023 Nov 20;14:1163288.
103. Balogh DB, Wagner LJ, Fekete A. An Overview of the Cardioprotective Effects of Novel Antidiabetic Classes: Focus on Inflammation, Oxidative Stress, and Fibrosis. *IJMS*. 2023 Apr 24;24(9):7789.
104. Chen J, Wang D, Wang F, Shi S, Chen Y, Yang B, et al. Exendin-4 inhibits structural remodeling and improves Ca²⁺ homeostasis in rats with heart failure via the GLP-1 receptor through the eNOS/cGMP/PKG pathway. *Peptides*. 2017 Apr;90:69–77.
105. Wang W, Mei A, Qian H, Li D, Xu H, Chen J, et al. The Role of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *COPD*. 2023 Feb;Volume 18:129–37.
106. Ghelani H, Razmovski-Naumovski V, Nammi S. Chronic treatment of (R)- α -lipoic acid reduces blood glucose and lipid levels in high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced

- metabolic syndrome and type 2 diabetes in Sprague-Dawley rats. *Pharmacology Res & Perspec.* 2017 Jun;5(3):e00306.
107. Ivanov EV, Akhmetshina MR, Gizatulina AR, Gavrilova SA. Evaluation of Peripheral Neuropathy in Rat Models of Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus. *Bull Exp Biol Med.* 2024 Aug;177(4):406–11.
 108. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest.* 1969 Nov 1;48(11):2129–39.
 109. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: The Langendorff technique of isolated heart perfusion. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2011 Jun;50(6):940–50.
 110. King DR, Hardin KM, Hoeker GS, Poelzing S. Reevaluating methods reporting practices to improve reproducibility: an analysis of methodological rigor for the Langendorff whole heart technique. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 2022 Sep 1;323(3):H363–77.
 111. Watanabe M, Okada T. Langendorff Perfusion Method as an Ex Vivo Model to Evaluate Heart Function in Rats. In: Ishikawa K, editor. *Experimental Models of Cardiovascular Diseases* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2018 [cited 2025 Jan 17]. p. 107–16. (Methods in Molecular Biology; vol. 1816). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8597-5_8
 112. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.* 1979 Jun;95(2):351–8.
 113. Srejsovic I, Zivkovic V, Nikolic T, Jeremic N, Stojic I, Jeremic J, et al. Modulation of *N*-methyl- D -aspartate receptors in isolated rat heart. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017 Nov;95(11):1327–34.
 114. Lalovic D, Jakovljevic V, Radoman K, Bradic J, Jeremic N, Vranic A, et al. The impact of low mineral content water on cardiac function in diabetic rats: focus on oxidative stress. *Mol Cell Biochem.* 2020 Sep;472(1–2):135–44.
 115. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry.* 1982 Oct;126(1):131–8.
 116. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *Journal of Immunological Methods.* 1980 Nov;38(1–2):161–70.
 117. Draginic N, Milosavljevic I, Andjic M, Jeremic J, Nikolic M, Sretenovic J, et al. Short-Term Administration of Lemon Balm Extract Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Focus on Oxidative Stress. *Pharmaceutics.* 2022 Jul 8;15(7):840.

118. D'Agnillo F, Chang TMS. Polyhemoglobin-superoxide dismutase-catalase as a blood substitute with antioxidant properties. *Nat Biotechnol.* 1998 Jul;16(7):667–71.
119. Jakovljevic V, Milic P, Bradic J, Jeremic J, Zivkovic V, Srejavic I, et al. Standardized Aronia melanocarpa Extract as Novel Supplement against Metabolic Syndrome: A Rat Model. *IJMS.* 2018 Dec 20;20(1):6.
120. Mihajlovic K, Milosavljevic I, Jeremic J, Savic M, Sretenovic J, Srejavic I, et al. Redox and apoptotic potential of novel ruthenium complexes in rat blood and heart. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021 Feb;99(2):207–17.
121. Sretenovic J, Zivkovic V, Srejavic I, Pantovic S, Jovic JJ, Nikolic M, et al. Nandrolone Decanoate and Swimming Affects Cardiodynamic and Morphometric Parameters in the Isolated Rat Heart. *Life.* 2022 Aug 16;12(8):1242.
122. Sretenovic J, Joksimovic Jovic J, Srejavic I, Zivkovic V, Mihajlovic K, Labudovic-Borovic M, et al. Morphometric analysis and redox state of the testicles in nandrolone decanoate and swimming treated adult male rats. *Basic Clin Androl.* 2021 Dec;31(1):17.
123. Waters LR, Ahsan FM, Wolf DM, Shirihai O, Teitell MA. Initial B Cell Activation Induces Metabolic Reprogramming and Mitochondrial Remodeling. *iScience.* 2018 Jul;5:99–109.
124. Bednarz K, Kowalczyk K, Cwynar M, Czapla D, Czarkowski W, Kmita D, et al. The Role of Glp-1 Receptor Agonists in Insulin Resistance with Concomitant Obesity Treatment in Polycystic Ovary Syndrome. *IJMS.* 2022 Apr 14;23(8):4334.
125. Lee YK, Sala L, Mura M, Rocchetti M, Pedrazzini M, Ran X, et al. *MTMR4* SNVs modulate ion channel degradation and clinical severity in congenital long QT syndrome: insights in the mechanism of action of protective modifier genes. *Cardiovascular Research.* 2021 Feb 22;117(3):767–79.
126. Fahed G, Aoun L, Bou Zerdan M, Allam S, Bou Zerdan M, Bouferaa Y, et al. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *IJMS.* 2022 Jan 12;23(2):786.
127. Wilding JPH, Batterham RL, Calanna S, Davies M, Van Gaal LF, Lingvay I, et al. Once-Weekly Semaglutide in Adults with Overweight or Obesity. *N Engl J Med.* 2021 Mar 18;384(11):989–1002.
128. Stretton B, Kovoov J, Bacchi S, Chang S, Ngoi B, Murray T, et al. Weight loss with subcutaneous semaglutide versus other glucagon-like peptide 1 receptor agonists in type 2 diabetes: a systematic review. *Internal Medicine Journal.* 2023 Aug;53(8):1311–20.
129. Gedulin BR, Nikoulina SE, Smith PA, Gedulin G, Nielsen LL, Baron AD, et al. Exenatide (Exendin-4) Improves Insulin Sensitivity and β -Cell Mass in Insulin-Resistant Obese *fa/fa* Zucker Rats Independent of Glycemia and Body Weight. *Endocrinology.* 2005 Apr;146(4):2069–76.

130. Gabery S, Salinas CG, Paulsen SJ, Ahnfelt-Rønne J, Alanentalo T, Baquero AF, et al. Semaglutide lowers body weight in rodents via distributed neural pathways. *JCI Insight*. 2020 Mar 26;5(6):e133429.
131. Andrews CN, Bharucha AE, Camilleri M, Low PA, Seide BM, Burton DD, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 and sympathetic stimulation on gastric accommodation in humans¹. *Neurogastroenterology Motil*. 2007 Sep;19(9):716–23.
132. Han SH, Safeek R, Ockerman K, Trieu N, Mars P, Klenke A, et al. Public Interest in the Off-Label Use of Glucagon-like Peptide 1 Agonists (Ozempic) for Cosmetic Weight Loss: A Google Trends Analysis. *Aesthetic Surgery Journal*. 2023 Dec 14;44(1):60–7.
133. Han SH, Ockerman K, Furnas H, Mars P, Klenke A, Ching J, et al. Practice Patterns and Perspectives of the Off-Label Use of GLP-1 Agonists for Cosmetic Weight Loss. *Aesthetic Surgery Journal*. 2024 Mar 15;44(4):NP279–306.
134. O'Neil PM, Birkenfeld AL, McGowan B, Mosenzon O, Pedersen SD, Wharton S, et al. Efficacy and safety of semaglutide compared with liraglutide and placebo for weight loss in patients with obesity: a randomised, double-blind, placebo and active controlled, dose-ranging, phase 2 trial. *The Lancet*. 2018 Aug;392(10148):637–49.
135. Drucker DJ. Efficacy and Safety of GLP-1 Medicines for Type 2 Diabetes and Obesity. *Diabetes Care*. 2024 Nov 1;47(11):1873–88.
136. Mann JFE, Buse JB, Idorn T, Leiter LA, Pratley RE, Rasmussen S, et al. Potential kidney protection with liraglutide and semaglutide: Exploratory mediation analysis. *Diabetes Obesity Metabolism*. 2021 Sep;23(9):2058–66.
137. Yao H, Zhang A, Li D, Wu Y, Wang CZ, Wan JY, et al. Comparative effectiveness of GLP-1 receptor agonists on glycaemic control, body weight, and lipid profile for type 2 diabetes: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*. 2024 Jan 29:e076410.
138. Ansari HUH, Qazi SU, Sajid F, Altaf Z, Ghazanfar S, Naveed N, et al. Efficacy and Safety of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists on Body Weight and Cardiometabolic Parameters in Individuals With Obesity and Without Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Endocrine Practice*. 2024 Feb;30(2):160–71.
139. Patel V, Joharapurkar A, Shah G, Jain M. Effect of GLP-1 Based Therapies on Diabetic Dyslipidemia. *CDR*. 2014 Jul 6;10(4):238–50.
140. Dietrich P, Hellerbrand C. Non-alcoholic fatty liver disease, obesity and the metabolic syndrome. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2014 Aug;28(4):637–53.
141. Piccirillo F, Mastroberardino S, Nusca A, Frau L, Guarino L, Napoli N, et al. Novel Antidiabetic Agents and Their Effects on Lipid Profile: A Single Shot for Several Cardiovascular Targets. *IJMS*. 2023 Jun 15;24(12):10164.
142. Ben-Shlomo S, Zvibel I, Shnell M, Shloma A, Chepurko E, Halpern Z, et al. Glucagon-like peptide-1 reduces hepatic lipogenesis via activation of AMP-activated protein kinase. *Journal of Hepatology*. 2011 Jun;54(6):1214–23.

143. Wu YR, Shi XY, Ma CY, Zhang Y, Xu RX, Li JJ. Liraglutide improves lipid metabolism by enhancing cholesterol efflux associated with ABCA1 and ERK1/2 pathway. *Cardiovasc Diabetol*. 2019 Dec;18(1):146.
144. Armstrong MJ, Hull D, Guo K, Barton D, Hazlehurst JM, Gathercole LL, et al. Glucagon-like peptide 1 decreases lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Hepatology*. 2016 Feb;64(2):399–408.
145. Xu F, Cao H, Chen Z, Gu H, Guo W, Lin B, et al. Short-term GLP-1 receptor agonist exenatide ameliorates intramyocellular lipid deposition without weight loss in ob/ob mice. *Int J Obes*. 2020 Apr;44(4):937–47.
146. Hoffman S, Alvares D, Adeli K. GLP-1 attenuates intestinal fat absorption and chylomicron production via vagal afferent nerves originating in the portal vein. *Molecular Metabolism*. 2022 Nov;65:101590.
147. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011 Sep 15;15(6):1583–606.
148. Zhao H, Zhang R, Yan X, Fan K. Superoxide dismutase nanozymes: an emerging star for anti-oxidation. *J Mater Chem B*. 2021;9(35):6939–57.
149. Chang G, Zhang D, Liu J, Zhang P, Ye L, Lu K, et al. Exenatide protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by improving mitochondrial function in H9c2 cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2014 Apr;239(4):414–22.
150. Botros SR, Matouk AI, Amin A, Heeba GH. Comparative effects of incretin-based therapy on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats: the role of SIRT1/Nrf2/NF- κ B/TNF- α signaling pathways. *Front Pharmacol*. 2024 Feb 19;15:1353029.
151. Oh Y, Jun HS. Effects of Glucagon-Like Peptide-1 on Oxidative Stress and Nrf2 Signaling. *IJMS*. 2017 Dec 22;19(1):26.
152. Omachi T, Ohara M, Fujikawa T, Kohata Y, Sugita H, Irie S, et al. Comparison of Effects of Injectable Semaglutide and Dulaglutide on Oxidative Stress and Glucose Variability in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Prospective Preliminary Study. *Diabetes Ther*. 2024 Jan;15(1):111–26.
153. Overgaard RV, Lindberg SØ, Thielke D. Impact on HbA1c and body weight of switching from other GLP-1 receptor agonists to semaglutide: A model-based approach. *Diabetes Obesity Metabolism*. 2019 Jan;21(1):43–51.
154. Yaribeygi H, Maleki M, Forouzanmehr B, Kesharwani P, Jamialahmadi T, Karav S, et al. Exploring the antioxidant properties of semaglutide: A comprehensive review. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2024 Dec;38(12):108906.
155. Eriksson AM, Lundgren B, Andersson K, DePierre JW. Is the cytosolic catalase induced by peroxisome proliferators in mouse liver on its way to the peroxisomes? *FEBS Letters*. 1992 Aug 17;308(2):211–4.

156. Shin SK, Cho HW, Song SE, Song DK. Catalase and nonalcoholic fatty liver disease. *Pflugers Arch - Eur J Physiol*. 2018 Dec;470(12):1721–37.
157. Rocha S, Gomes D, Lima M, Bronze-da-Rocha E, Santos-Silva A. Peroxiredoxin 2, glutathione peroxidase, and catalase in the cytosol and membrane of erythrocytes under H₂O₂-induced oxidative stress. *Free Radical Research*. 2015 Aug 3;49(8):990–1003.
158. Stanciu S, Rusu E, Miricescu D, Radu AC, Axinia B, Vrabie AM, et al. Links between Metabolic Syndrome and Hypertension: The Relationship with the Current Antidiabetic Drugs. *Metabolites*. 2023 Jan 5;13(1):87.
159. Yanai H, Tomono Y, Ito K, Furutani N, Yoshida H, Tada N. The underlying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome. *Nutr J*. 2008 Dec;7(1):10.
160. Jeremic JN, Jakovljevic VLj, Zivkovic VI, Srejavic IM, Bradic JV, Milosavljevic IM, et al. Garlic Derived Diallyl Trisulfide in Experimental Metabolic Syndrome: Metabolic Effects and Cardioprotective Role. *IJMS*. 2020 Nov 30;21(23):9100.
161. Dupas J, Feray A, Goanvec C, Guernec A, Samson N, Bougaran P, et al. Metabolic Syndrome and Hypertension Resulting from Fructose Enriched Diet in Wistar Rats. *BioMed Research International*. 2017;2017:1–10.
- 6 162. Miyagawa J, Odawara M, Takamura T, Iwamoto N, Takita Y, Imaoka T. Once-weekly glucagon-like peptide-1 receptor agonist dulaglutide is non-inferior to once-daily liraglutide and superior to placebo in Japanese patients with type 2 diabetes: a 26-week randomized phase III study. *Diabetes Obesity Metabolism*. 2015 Oct;17(10):974–83.
163. Marso SP, Bain SC, Consoli A, Eliaschewitz FG, Jódar E, Leiter LA, et al. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016 Nov 10;375(19):1834–44.
164. Marso SP, Daniels GH, Brown-Frandsen K, Kristensen P, Mann JFE, Nauck MA, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med*. 2016 Jul 28;375(4):311–22.
- 6 165. Robinson LE, Holt TA, Rees K, Randeva HS, O'Hare JP. Effects of exenatide and liraglutide on heart rate, blood pressure and body weight: systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2013;3(1):e001986.
166. Lee HY, Ko SH, Park S, Kim K, Kim SY, Cho IJ, et al. The role of glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP1-RAs) in the management of the hypertensive patient with metabolic syndrome: a position paper from the Korean society of hypertension. *Clin Hypertens*. 2024 Sep 1;30(1):24.
- 3 167. Fonseca VA, DeVries JH, Henry RR, Donsmark M, Thomsen HF, Plutzky J. Reductions in systolic blood pressure with liraglutide in patients with type 2 diabetes: Insights from a patient-level pooled analysis of six randomized clinical trials. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2014 May;28(3):399–405.

-
168. ⁶ Ferdinand KC, White WB, Calhoun DA, Lonn EM, Sager PT, Brunelle R, et al. Effects of the Once-Weekly Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonist Dulaglutide on Ambulatory Blood Pressure and Heart Rate in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Hypertension*. 2014 Oct;64(4):731–7.
169. Goud A, Zhong J, Peters M, Brook RD, Rajagopalan S. GLP-1 Agonists and Blood Pressure: A Review of the Evidence. *Curr Hypertens Rep*. 2016 Feb;18(2):16.
170. ⁶ Ribeiro-Silva JC, Tavares CAM, Girardi ACC. The blood pressure lowering effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists: A mini-review of the potential mechanisms. *Current Opinion in Pharmacology*. 2023 Apr;69:102355.
171. Fan SH, Xiong QF, Wang L, Zhang LH, Shi YW. Glucagon-like peptide 1 treatment reverses vascular remodelling by downregulating matrix metalloproteinase 1 expression through inhibition of the ERK1/2/NF- κ B signalling pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020 Dec;518:111005.
172. Nyström T, Gonon AT, Sjöholm Å, Pernow J. Glucagon-like peptide-1 relaxes rat conduit arteries via an endothelium-independent mechanism. *Regulatory Peptides*. 2005 Feb;125(1–3):173–7.
173. Moreno C, Mistry M, Roman RJ. Renal effects of glucagon-like peptide in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2002 Jan;434(3):163–7.
174. ³ Katsurada K, Nakata M, Saito T, Zhang B, Maejima Y, Nandi SS, et al. Central Glucagon-like Peptide-1 Receptor Signaling via Brainstem Catecholamine Neurons Counteracts Hypertension in Spontaneously Hypertensive Rats. *Sci Rep*. 2019 Sep 19;9(1):12986.
175. Pauza AG, Thakkar P, Tasic T, Felipe I, Bishop P, Greenwood MP, et al. GLP1R Attenuates Sympathetic Response to High Glucose via Carotid Body Inhibition. *Circulation Research*. 2022 Mar 4;130(5):694–707.
176. Rameshrad M, Razavi BM, Lalau JD, De Broe ME, Hosseinzadeh H. An overview of glucagon-like peptide-1 receptor agonists for the treatment of metabolic syndrome: A drug repositioning. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences [Internet]*. 2020 May [cited 2025 Jan 17];23(5). Available from: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.41638.9832>
177. Leichman JG, Lavis VR, Aguilar D, Wilson CR, Taegtmeier H. The metabolic syndrome and the heart—: a considered opinion. *Clin Res Cardiol*. 2006 Jan;95(S1):i134–41.
178. Sakthivadivel V, Chinnathambi C, Selvaraju D, Gaur A, Bakthavatchalam R, Srivijayan A, et al. Metabolic syndrome – cardiac structure and functional analysis by echocardiography; a cross sectional comparative study. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*. 2023 Sep 29;44(3):305–10.
179. Sharma A, Razaghizad A, Ferreira JP, Machu JL, Bozec E, Girerd N, et al. Metabolic Syndrome and the Risk of Preclinical Heart Failure: Insights after 17 Years of Follow-Up from the STANISLAS Cohort. *Cardiology*. 2022;147(3):281–7.
-

-
180. Jorsal A, Kistorp C, Holmager P, Tougaard RS, Nielsen R, Hänselmann A, et al. Effect of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 analogue, on left ventricular function in stable chronic heart failure patients with and without diabetes (LIVE)—a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *European J of Heart Fail.* 2017 Jan;19(1):69–77.
181. Bai XJ, Hao JT, Zheng RH, Yan CP, Wang J, Yang CH, et al. Glucagon-Like Peptide-1 Analog Liraglutide Attenuates Pressure-Overload Induced Cardiac Hypertrophy and Apoptosis through Activating ATP Sensitive Potassium Channels. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2021 Feb;35(1):87–101.
182. Ferreira JP, Saraiva F, Sharma A, Vasques-Nóvoa F, Angélico-Gonçalves A, Leite AR, et al. Glucagon-like peptide 1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes with and without chronic heart failure: A meta-analysis of randomized placebo-controlled outcome trials. *Diabetes Obesity Metabolism.* 2023 Jun;25(6):1495–502.
183. Xie S, Zhang M, Shi W, Xing Y, Huang Y, Fang W, et al. Long-Term Activation of Glucagon-like peptide-1 receptor by Dulaglutide Prevents Diabetic Heart Failure and Metabolic Remodeling in Type 2 Diabetes. *JAHA.* 2022 Oct 4;11(19):e026728.
184. Durak A, Akkus E, Canpolat AG, Tuncay E, Corapcioglu D, Turan B. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist treatment of high carbohydrate intake-induced metabolic syndrome provides pleiotropic effects on cardiac dysfunction through alleviations in electrical and intracellular Ca^{2+} abnormalities and mitochondrial dysfunction. *Clin Exp Pharma Physio.* 2022 Jan;49(1):46–59.
185. Lee KH, Ha SJ, Woo JS, Lee GJ, Lee SR, Kim JW, et al. Exenatide Prevents Morphological and Structural Changes of Mitochondria Following Ischaemia-Reperfusion Injury. *Heart, Lung and Circulation.* 2017 May;26(5):519–23.
186. Timmers L, Henriques JPS, De Kleijn DPV, DeVries JH, Kemperman H, Steendijk P, et al. Exenatide Reduces Infarct Size and Improves Cardiac Function in a Porcine Model of Ischemia and Reperfusion Injury. *Journal of the American College of Cardiology.* 2009 Feb;53(6):501–10.
187. Sokos GG, Nikolaidis LA, Mankad S, Elahi D, Shannon RP. Glucagon-Like Peptide-1 Infusion Improves Left Ventricular Ejection Fraction and Functional Status in Patients With Chronic Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure.* 2006 Dec;12(9):694–9.
188. Xie D, Li Y, Xu M, Zhao X, Chen M. Effects of dulaglutide on endothelial progenitor cells and arterial elasticity in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2022 Oct 3;21(1):200.
189. Hunt JE, Holst JJ, Jeppesen PB, Kíssow H. GLP-1 and Intestinal Diseases. *Biomedicines.* 2021 Apr 5;9(4):383.
190. Tate M, Robinson E, Green BD, McDermott BJ, Grieve DJ. Exendin-4 attenuates adverse cardiac remodelling in streptozocin-induced diabetes via specific actions on infiltrating macrophages. *Basic Res Cardiol.* 2016 Jan;111(1):1.
-

191. ⁵ Birnbaum Y, Ye Y, Bajaj M. Myocardial Protection Against Ischemia-Reperfusion Injury by GLP-1: Molecular Mechanisms. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2012 Dec;10(6):387–90.
192. ³ Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefer J, Bolz SS, Drucker DJ, Husain M. Cardioprotective and Vasodilatory Actions of Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Are Mediated Through Both Glucagon-Like Peptide 1 Receptor-Dependent and -Independent Pathways. *Circulation*. 2008 May 6;117(18):2340–50.
193. Lee MY, Tsai KB, Hsu JH, Shin SJ, Wu JR, Yeh JL. Liraglutide prevents and reverses monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by suppressing ET-1 and enhancing eNOS/sGC/PKG pathways. *Sci Rep*. 2016 Sep 1;6(1):31788.
194. Monji A, Mitsui T, Bando YK, Aoyama M, Shigeta T, Murohara T. Glucagon-like peptide-1 receptor activation reverses cardiac remodeling via normalizing cardiac steatosis and oxidative stress in type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2013 Aug 1;305(3):H295–304.
195. ⁵ He W, Tong G, Fan H, Zhen C, Zeng L, Xue L, et al. ⁵ Exendin-4 alleviates myocardial ischemia reperfusion injury by enhancing autophagy through promoting nuclear translocation of TFEB. *Experimental Cell Research*. 2023 Feb;423(2):113469.
196. Shiraki A, Oyama J ichi, Komoda H, Asaka M, Komatsu A, Sakuma M, et al. The glucagon-like peptide 1 analog liraglutide reduces TNF- α -induced oxidative stress and inflammation in endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2012 Apr;221(2):375–82.
197. ⁵ Bajic Z, Sobot T, Uletilovic S, Mandic-Kovacevic N, Cvjetkovic T, Malicevic U, et al. ⁵ Cardioprotective effects of liraglutide pretreatment on isoprenaline-induced myocardial injury in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2023 May 1;101(5):258–67.
198. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, et al. Effects of Glucagon-Like Peptide-1 in Patients With Acute Myocardial Infarction and Left Ventricular Dysfunction After Successful Reperfusion. *Circulation*. 2004 Mar 2;109(8):962–5.
199. ⁵ Wang R, Wang N, Han Y, Xu J, Xu Z. Dulaglutide Alleviates LPS-Induced Injury in Cardiomyocytes. *ACS Omega*. 2021 Mar 30;6(12):8271–8.
200. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obesity Metabolism*. 2018 Feb;20(S1):5–21.
201. ⁹ Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet*. 2005 Sep;366(9491):1059–62.
202. Clark AL, Cleland JGF. Causes and treatment of oedema in patients with heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2013 Mar;10(3):156–70.
203. Da Rocha S, Bigot J, Onodi F, Cosette J, Corre G, Poupiot J, et al. Temporary Reduction of Membrane CD4 with the Antioxidant MnTBAP Is Sufficient to Prevent Immune

- Responses Induced by Gene Transfer. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development*. 2019 Sep;14:285–99.
204. Takahashi Y, Nishiyama S ichiro, Kawagishi I, Imada K. Structural basis of the binding affinity of chemoreceptors Mlp24p and Mlp37p for various amino acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2020 Feb;523(1):233–8.
205. Sharma A, Verma S. Mechanisms by Which Glucagon-Like-Peptide-1 Receptor Agonists and Sodium-Glucose Cotransporter-2 Inhibitors Reduce Cardiovascular Risk in Adults With Type 2 Diabetes Mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*. 2020 Feb;44(1):93–102.
206. Yan Y, Zhou XE, Xu HE, Melcher K. Structure and Physiological Regulation of AMPK. *IJMS*. 2018 Nov 9;19(11):3534.
207. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *The Lancet*. 2005 Apr;365(9468):1415–28.
208. Jendle J, Grunberger G, Blevins T, Giorgino F, Hietpas RT, Botros FT. Efficacy and safety of dulaglutide in the treatment of type 2 diabetes: a comprehensive review of the dulaglutide clinical data focusing on the AWARD phase 3 clinical trial program. *Diabetes Metabolism Res*. 2016 Nov;32(8):776–90.
209. Griffiths W, Davies S, Gibbs P, Thillainayagam A, Alexander G. Liver transplantation in an adult with sclerosing cholangitis due to Langerhans cell histiocytosis. *Journal of Hepatology*. 2006 Apr;44(4):829–31.
210. Nevola R, Epifani R, Imbriani S, Tortorella G, Aprea C, Galiero R, et al. GLP-1 Receptor Agonists in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Current Evidence and Future Perspectives. *IJMS*. 2023 Jan 15;24(2):1703.
211. Newsome PN, Ambery P. Incretins (GLP-1 receptor agonists and dual/triple agonists) and the liver. *Journal of Hepatology*. 2023 Dec;79(6):1557–65.
212. Yanai H, Adachi H, Hakoshima M, Katsuyama H. Molecular Biological and Clinical Understanding of the Pathophysiology and Treatments of Hyperuricemia and Its Association with Metabolic Syndrome, Cardiovascular Diseases and Chronic Kidney Disease. *IJMS*. 2021 Aug 26;22(17):9221.
213. Oliva-Damaso N, Oliva-Damaso E, Payan J, Porrini E. Dulaglutide slows kidney disease in type 2 diabetes. *The Lancet*. 2020 Feb;395(10224):559.
214. Tuttle KR, Lakshmanan MC, Rayner B, Busch RS, Zimmermann AG, Woodward DB, et al. Dulaglutide versus insulin glargine in patients with type 2 diabetes and moderate-to-severe chronic kidney disease (AWARD-7): a multicentre, open-label, randomised trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2018 Aug;6(8):605–17.
215. Su K, Yi B, Yao B qing, Xia T, Yang Y fei, Zhang Z hao, et al. Liraglutide attenuates renal tubular ectopic lipid deposition in rats with diabetic nephropathy by inhibiting lipid synthesis and promoting lipolysis. *Pharmacological Research*. 2020 Jun;156:104778.

216. Morieri ML, Rigato M, Frison V, Simioni N, D'Ambrosio M, Tadiotto F, et al. Effectiveness of dulaglutide vs liraglutide and exenatide once-weekly. A real-world study and meta-analysis of observational studies. *Metabolism*. 2020 May;106:154190.
217. Moore PW, Malone K, VanValkenburg D, Rando LL, Williams BC, Matejowsky HG, et al. GLP-1 Agonists for Weight Loss: Pharmacology and Clinical Implications. *Adv Ther*. 2023 Mar;40(3):723–42.
218. ⁴ Tanaka T, Yano T, Adachi T, Koshimizu T aki, Hirasawa A, Tsujimoto G. Cloning and characterization of the rat free fatty acid receptor GPR120: in vivo effect of the natural ligand on GLP-1 secretion and proliferation of pancreatic β cells. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*. 2008 Jun;377(4–6):515–22.

БИОГРАФИЈА

Марко Равић је рођен 2. октобра 1990. године у Крагујевцу, Република Србија. Средње образовање стекао је у Медицинској школи са домом ученика „Сестре Нинковић“ у Крагујевцу, коју је завршио 2009. године.

Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписао је школске 2009/2010. године, а дипломирао 5. јула 2016. године са просечном оценом 8,28.

Од 2016. године активно се бави научно-истраживачким радом у Центру за претклиничка и функционална истраживања Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, којим руководи проф. др Владимир Јаковљевић.

У фебруару 2017. године запослен је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу као сарадник у настави, а од фебруара 2019. године као асистент за ужу научну област Клиничка фармација.

Тренутно похађа специјалистичке студије из Клиничке фармакологије, које је започео у децембру 2019. године.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје – Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином, уписао је 2016. године. Усмени докторски испит положио је са оценом 9 (девет).

До сада је учествовао на више научних конгреса. На 7. састанку Европске секције и 8. састанку Северноамеричке секције Међународне академије за кардиоваскуларне науке (7th Meeting of the European Section and 8th Meeting of the North American Section of the International Academy of Cardiovascular Sciences), одржаном у Бања Луци, освојио је награду за најбољи постер.

У својој листи референци има 10 (десет) радова објављених у целини, од којих је 7 индексирано на SCI листи.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

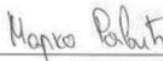
**„Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глутагону-1 на
исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким
синдромом”**

представља оригинално ауторско дело настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам једини аутор наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији нисам извршио/ла повреду ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 12.02.2025. године,



потпис аутора
Марко П. Равић

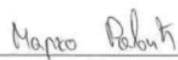
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

„Ефекти агониста рецетора за пептид сличан глутагону-1 на
исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким
синдромом”

истоветне.

У Крагујевцу, 12.02.2025. године,



потпис аутора
Марко П. Равић

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕЈа, **Марко П. Равић**,

☒ дозвољавам
☐ не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Ефекти агониста репентора за пептид сличан глутагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом”

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

☒ дозвољавам
☐ не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делим под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима

⑥) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 12.02.2025. године,

Марко Равић

потпис аутора
Марко П. Равић

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>

Ефекти агониста рецептора за пептид сличан глукагону-1 на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова са метаболичким синдромом

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	eteze.kg.ac.rs Internet	833 words — 2%
2	Станишић, Драгана Н.. "Ефекти Пробиотика (Lactobacillus Rhamnosus) на Пародонтопатију код Мишева са Хиперхомоцистеинемијом: Улога Дисбиозе", University of Kragujevac (Serbia), 2024 ProQuest	679 words — 2%
3	www.frontiersin.org Internet	403 words — 1%
4	hdl.handle.net Internet	385 words — 1%
5	Marko Ravic, Ivan Srejavic, Jovana Novakovic, Marijana Andjic et al. "Effect of GLP-1 Receptor Agonist on Ischemia Reperfusion Injury in Rats with Metabolic Syndrome", Pharmaceuticals, 2024 Crossref	319 words — 1%
6	Frederick Berro Rivera, Grace Nooriza O. Lumbang, Danielle Rose Magno Gaid, Linnaeus Louise A. Cruz et al. "Glucagon-like peptide-1 receptor agonists modestly reduced blood pressure among patients with and without diabetes mellitus: A meta-analysis and meta-regression", Cold Spring Harbor Laboratory, 2024	297 words — 1%

-
- 7 nardus.mpn.gov.rs 271 words — 1 %
Internet
-
- 8 Симоновић, Нина. "Утицај Прекондиционирања Антагонистима L-типа Калцијумских Канала И Никорандилом Самостално и У Комбинацији Са Хипербаричном Оксигенацијом На Функционални Опоравак Изолованог Срца Пацова", University of Kragujevac (Serbia), 2024 204 words — 1 %
ProQuest
-
- 9 Милић, Петар. "Испитивање Ефеката Дијете Обогаћене Екстрактом Ароније на Настанак и Развој Метаболичког Синдрома На Анималном Моделу", University of Kragujevac (Serbia), 2024 195 words — 1 %
ProQuest
-

EXCLUDE QUOTES OFF

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE SOURCES

< 1%

EXCLUDE MATCHES

< 9 WORDS