



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Невена Л. Драгашевић

**Ефекти различитих антихипертензивних
агенаса на исхемијско/реперфузиони
поремећај изолованог срца пацова са
хипертензијом**

докторска дисертација

Крагујевац, 2023.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Nevena L. Dragašević

**Efekti različitih antihipertenzivnih agenasa na
ishemijsko/reperfuzioni poremećaj izolovanog
srca pacova sa hipertenzijom**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Nevena L. Dragasevic

**Effects of different antihypertensive agents on
ischemia/reperfusion disorder of the isolated
hypertensive rat heart**

doctoral dissertation

Kragujevac, 2023.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

| |
|--|
| I Аутор |
| Име и презиме: Невена Драгашевић |
| Датум и место рођења: 07.02.1977., Крагујевац |
| Садашње запослење: Галеника, АД, Земун |
| II Докторска дисертација |
| Наслов: Ефекти различитих антихипертензивних агенаса на исхемијско/реперфузиони поремећај изолованог срца пацова са хипертензијом |
| Број страница: 96 |
| Број слика: 8 слика, 6 табеле, 17 графика, 2 схеме |
| Број библиографских података: 153 |
| Установа и место где је рад израђен: Центар за предклиничка и функционална истраживања, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу |
| Научна област (УДК): Медицина |
| Ментор: проф. др Тамара Николић Турнић, ванредни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу |
| III Оцена и одбрана |
| Датум пријаве теме: 10.11.2020. године |
| Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-175/10, дана 10.03.2021. године |
| Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: |
| 1. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник |
| 2. Проф. др Владимир Живковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан |
| 3. Проф. др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан |
| Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације: |
| Датум одбране дисертације: |

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

| |
|---|
| I Autor |
| Ime i prezime: Nevena Dragašević |
| Datum i mesto rođenja: 07.02.1977., Kragujevac |
| Sadašnje zaposlenje: Galenika, AD, Zemun |
| II Doktorska disertacija |
| Naslov: Efekti različitih antihipertenzivnih agenasa na ishemijsko/reperfuzioni poremećaj izolovanog srca pacova sa hipertenzijom |
| Broj stranica: 96 |
| Broj slika: 8 slika, 6 tabele, 17 grafika, 2 sheme |
| Broj bibliografskih podataka: 153 |
| Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Centar za predklinička i funkcionalna istraživanja, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu |
| Naučna oblast (UDK): Medicina |
| Mentor: prof. dr Tamara Nikolic Turnic, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu |
| III Ocena i odbrana |
| Datum prijave teme: 10.11.2020. godine |
| Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije: IV-03-175/10, dana 10.03.2021. godine |
| Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: |
| 1. Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik |
| 2. Prof. dr Vladimir Živković, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, član |
| 3. Prof. dr Dragan Đurić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za užu naučnu oblast Fiziologija, član |
| |
| Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije: |
| |
| Datum odbrane disertacije: |

DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

| |
|---|
| I Author |
| Name and surname: Nevena Dragasevic |
| Date and place of birth: 07.02.1977., Kragujevac |
| Current employment: Galenika, AD, Zemun |
| II Doctoral Dissertation |
| Title: Effects of different antihypertensive agents on ischemia/reperfusion disorder of the isolated heart of hypertensive rats |
| No. of pages: 96 |
| No. of images: 8 pictures, 6 tables, 17 charts, 2 schemes |
| No. of bibliographic data: 153 |
| Institution and place of work: Center for preclinical and functional research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac |
| Scientific area (UDC): Medicine |
| Mentor: prof. dr Tamara Nikolic Turnic, associate professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac |
| III Grade and Dissertation Defense |
| Topic Application Date: 10.11.2020. |
| Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation topic: IV-03-175/10, 10.03.2021. |
| Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: |
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. dr Vladimir Jakovljević, full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrow scientific field of Physiology, president 2. Prof. dr Vladimir Živković, full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for the narrow scientific field of Physiology, member 3. Prof. dr Dragan Djiruc, full professor at the Medical Faculty, University of Beograd for the narrow scientific for the narrow scientific field of Physiology, member |
| Commission for evaluation and defense of doctoral dissertation: |
| Date of Dissertation Defense: |

Захвалница

Овај докторат је урађен на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Желим да се захвалим свима који су ми на овом захтевном путу и раду, испитивању, анализама и писању докторске дисертације пружали свесрдну помоћ, давали подршку и имали разумевања за значај овог истраживања како за медицинску заједницу, тако и за мене лично и професионално.

Посебну захвалност дугујем свом ментору проф. др Тамари Турнић Николић, на помоћи у избору теме и дефинисању правих питања и смерница за успешан завршетак овог рада, као и на конкретним, правовременим и квалитетним саветима.

Такође, захвалност дугујем и тиму Центра за претклиничка и функционална истраживања за помоћ у обављању лабораторијских испитивања, прикупљању резултата и њиховом тумачењу, а нарочито асс. др Катарини Михајловић, за помоћ при изради експерименталног дела дисертације, биохемијских анализа као и на доприносу унапређењу истих.

Захвалност дугујем и колегиници доц. др Јасмини Сретеновић за свесрдну помоћ и конкретне савете у патохистолошком тумачењу резултата вршених испитивања.

Не могу пропустити а да се појединачно не захвалим професору др Владимиру Живковићу за све стручне и пријатељске савете који су ми помогли при истраживању и писању ове докторске дисертације.

Посебну и велики захвалност дугујем професору др Владимиру Јаковљевићу, декану Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и дугогодишњем пријатељу, који је утицао на моје опредељење да се бавим медицином и који пружа континуирану професионалну подршку да наставим своје даље напредовање и усавршавање.

Велико хвала и колегиници асс.др Маји Савић на безусловној подршци, пријатељским саветима у периоду писања доктората.

Коначно, највећу захвалност дугујем својој породици за све вредности које годинама развијамо, за безрезервну подршку у сваком мом настојању да се усавршавам и напредујем, на разумевању и љубави коју ми пружају, а пре и изнад свега, велико хвала мојој деци Софији, Обрену и Дуњи, мом неисцрпном извору снаге, уз које све ово има још већи смисао.

САЖЕТАК

Како су вишедеценијска истраживања показала кардиопротективна дејства антихипертензивних лекова, заинтересовало нас је да истражимо њихов ефекат на исхемијско-реперфузиону (И/Р) повреду срца.

Циљ студије је био да се утврде ефекти субхроничне терапије различитим антихипертензивним лековима на И/Р дисфункцију срца код хипертензивних пацова по моделу глобалне исхемије на изолованом срцу пацова.

Истраживање је спроведено на 80 спонтано хипертензивних *Wistar Kyoto* пацова мужјака, груписаних у 8 група. Животиње су третиране четири недеље са 10 mg/kg хидрохлоротиазида, индапамида, зофеноприла, спиронолактона или њихових комбинација (ЗХС, ЗИС) *per os*. Након третмана спроведена су хемодинамска мерења, ехокардиографија и процена функције миокарда према *Langendorff* ретроградној методи перфузије. Индуковани модел глобалне исхемије је подразумевао примену 20 минута исхемије, а затим 30 минута реперфузије на срце (И20:Р30). Маркери оксидативног стреса одређивани су из коронарног венског ефлуента, плазме и лизата еритроцита спектрофотометријски. Узорци ткива срца и бубрега су патохистолошки анализирани.

Третман комбинацијом АЦЕ-инхибитора и дуретика значајно је снизио крвни притисак спонтанохипертензивних пацова, ублажио хипертрофију леве коморе и повећао ејекциону фракцију, док на оксидациони статус није деловао. С друге стране самостална примене сва три испитивана диуретика је показала изузетан антиоксидативни потенцијал. Патохистолошка анализа узорака ткива срца и бубрега, указује да субхронична примена антихипертензивних агенаса не доводи до значајних промена у овим органима. Праћење срчане функције спонтанохипертензивних пацова *ex vivo* дало је увид у кардиопротективне ефекте индапамида.

Кључне речи: тиазидни диуретици, антагонисти алдостерона, АЦЕ-инхибитори, есенцијална хипертензија, исхемија/реперфузија, *Wistar Kyoto* сој.

ABSTRACT

Antihypertensive drugs have positive benefits in cardiovascular disease, so we sought to examine their effect on ischaemia-reperfusion (I/R) injury of heart.

The study's objective was to ascertain results of subchronic therapy of antihypertensive agents on I/R dysfunction of the heart in spontaneously hypertensive rats (SHR) by a model of global ischemia on isolated heart of rat.

The research included 80 *Wistar Kyoto* SHR, male sex, grouped into 8 groups. The animals were treated 4 weeks (10 mg/kg) with hydrochlorothiazide, indapamide, spironolactone, zofenopril or their combinations (ZHS, ZIS) *per os*. After treatment we analysed hemodynamic measurements, echocardiography, and myocardial function according to the *Langendorff* retrograde perfusion method. An induced global ischemia model involved applying 20 minutes of ischemia followed by 30 minutes of reperfusion to the heart. Oxidative stress markers were determined spectrophotometrically from coronary venous effluent, plasma and erythrocyte lysate. Heart and kidney tissue samples were pathohistologically analyzed.

Treatment with ZHS and ZIS lowered the blood pressure of SHR, alleviated left ventricular hypertrophy and increased the ejection fraction, while it had no effect on the oxidation status. On the other hand, all three tested diuretics showed exceptional antioxidant potential. Pathohistological analysis indicates that subchronic administration of antihypertensive agents does not lead to significant changes in heart and kidney. Cardiac function monitoring of SHR provided insight into cardioprotective effects of indapamide.

Key words: thiazide diuretics, aldosterone antagonist, ACE inhibitors, essential hypertension, ischemia/reperfusion, *Wistar Kyoto* strain.

САДРЖАЈ

| | |
|---|----|
| 1. УВОД..... | 2 |
| 1.1. Артеријски крвни притисак..... | 2 |
| 1.2. Дефиниција артеријске хипертензије..... | 4 |
| 1.2.1. Епидемиолошки подаци о артеријској хипертензији..... | 4 |
| 1.2.2. Врсте артеријске хипертензије..... | 5 |
| 1.2.3. Класификација артеријске хипертензије..... | 6 |
| 1.3. Терапијски протоколи артеријске хипертензије..... | 8 |
| 1.3.1. Евалуација пацијента..... | 8 |
| 1.3.2. Процена кардиоваскуларног ризика..... | 8 |
| 1.3.3. Нефармаколошки протоколи снижавања крвног притиска..... | 9 |
| 1.3.4. Фармаколошки протоколи снижавања крвног притиска..... | 10 |
| 1.4. Прооксиданси <i>in vivo</i> и оксидациони стрес..... | 15 |
| 1.4.1. Реактивне врсте кисеоника(ROS)..... | 15 |
| 1.4.2. Реактивне врсте азота (RNS)..... | 17 |
| 1.5. Улога оксидационог стреса у артеријској хипертензији..... | 18 |
| 1.6. Ишемијско/реперфузиона повреда миокарда..... | 20 |
| 2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА..... | 23 |
| 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ..... | 25 |
| 3.1. Експерименталне животиње..... | 25 |
| 3.2. Мерење крвног притиска..... | 26 |
| 3.3. Ехокардиографија..... | 27 |
| 3.4. Модел глобалне исхемије и испитивање функције изолованог срца пацова..... | 27 |
| 3.5. Кардиодинамски параметри..... | 29 |
| 3.6. Биохемијске анализе биомаркера срчаног и системског оксидационог статуса.. | 30 |
| 3.6.1. Одређивање супероксид анјон радикала..... | 31 |
| 3.6.2. Одређивање водоник пероксида..... | 31 |
| 3.6.3. Одређивање индекса липидне пероксидације..... | 31 |
| 3.6.4. Одређивање нитрита..... | 31 |
| 3.6.5. Одређивање активности каталазе..... | 31 |
| 3.6.6. Одређивање активности супероксид дисмутазе..... | 31 |
| 3.6.7. Одређивање редукованог глутатиона..... | 31 |
| 3.7. Патохистолошка анализа срца..... | 32 |
| 3.8. Статистичка обрада података..... | 32 |
| 4. РЕЗУЛТАТИ..... | 34 |

| | |
|---|----|
| 4.1. Крвни притисак спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима..... | 34 |
| 4.2. Ехокардиографија спонтано хипертензивних пацова третираних антихипертензивним лековима | 35 |
| 4.3. Кардиодинамиски параметари изолованог срца спонтано хипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима | 37 |
| 4.3.1. Максимална стопа промене притиска у левој комори изолованог срца пацова | 37 |
| 4.3.2. Минимална стопа промене притиска у левој комори изолованог срца пацова | 39 |
| 4.3.3. Систолни притисак леве коморе изолованог срца пацова | 41 |
| 4.3.4. Дијастолни притисак леве коморе изолованог срца пацова | 43 |
| 4.3.5. Срчана фреквенца изолованог срца пацова | 45 |
| 4.3.6. Коронарни проток изолованог срца пацова..... | 47 |
| 4.4. Коронарни оксидациони стрес спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима..... | 50 |
| 4.4.1. Супероксид ањон радикал ($O_2^{\cdot-}$) | 50 |
| 4.4.2. Азот моноксид (NO)..... | 51 |
| 4.4.3. Водоник пероксид (H_2O_2) | 52 |
| 4.4.4. Индекс липидне пероксидације (TBARS)..... | 53 |
| 4.5. Системски оксидациони стрес код спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима..... | 55 |
| 4.5.1. Супероксид ањон радикал ($O_2^{\cdot-}$) | 55 |
| 4.5.2. Водоник пероксид (H_2O_2) | 57 |
| 4.5.3. Азот моноксид (NO)..... | 59 |
| 4.5.4. Индекс липидне пероксидације (TBARS)..... | 61 |
| 4.5.5. Супероксид дисмутаза (SOD) | 63 |
| 4.5.6. Каталаза (CAT) | 64 |
| 4.5.7. Глутатион (GSH) | 65 |
| 4.6. Патохистолошка анализа ткива срца и бубрега спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима | 67 |
| 5. ДИСКУСИЈА | 72 |
| 5.1. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на вредности крвног притиска спонтанохипертензивних пацова | 72 |
| 5.2. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на функцију и структуру срца пацова | 75 |
| 5.3. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на оксидациони стрес код спонтанохипертензивних пацова..... | 79 |

| | |
|---|----|
| 5.4. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на патохистолошке промене у ткиву срца и бубрега | 83 |
| 6. ЗАКЉУЧЦИ..... | 86 |
| 7. ЛИТЕРАТУРА..... | 88 |

I

УВОД

1. УВОД

1.1. Артеријски крвни притисак

Прошло је више од 120 година од открића ренина као првог у каскадном систему ренин ангиотензин који је кључни регулаторни механизам у контроли крвног притиска (*Williams B, 2016*). Под претпоставком да се продукује у бубрезима је управо назван ренином, а нешто касније на експерименту који је изведен на псу констрикцијом реналних артерија је такође уочена повезаност са порастом артеријског крвног притиска и откривена супстанца названа ангиотензин (*Basso N u Terragno NA, 2001*). Читав век касније је доказано у многим студијама да је неурохуморални статус битан у готово свим кардиоваскуларним болестима, и да у неурохуморалној адаптацији битну улогу има локална срчана и бубрежна активација управо овог система ренин ангиотензин-алдостерон (РААС). РААС се конвенционално посматра као циркулирајући систем, који учествује у регулацији соли, хомеостази течности и крвном притиску. Као последицу дејства овог система са једне стране имамо продукцију констрикторних супстанци чиме добијамо констрикцију и кардиотоксичност, али имамо и продукцију оних супстанци које су супротног деловања попут NO и натриуретских пептида који имају ефекат на дилатацију и кардиопротекцију. На оба ова елемента можемо утицати управо деловањем на РААС којим можемо направити превагу у корист механизма који желимо. Класични пут РААС систем се састоји од ензима који конвертује ангиотензин (енгл. *Angiotensin-converting enzyme* - ACE), смештен на луминалној страни ендотела, после тога преводи ангиотензина 1 у ангиотензина 2. Ренин настаје конверзијом проренина у бубрегу и врши протеолитичку деградацију ангиотензиногена (који настаје у јетри) до ангиотензина (Ang) I у крви (Схема 1). Ангиотензин 2 испољава своје ефекте стимулацијом рецептора типа 1 (AT₁) који се налазе у миокарду, крвним судовима, бубрегу, надбубрежној жлезди и мозгу и типа 2 (AT₂) рецептора смештених у надбубрежној жлезди, материци, ткиву фетуса. Поред тога што делује као вазоконстриктор преко AT₁ рецептора, ангиотензин II такође делује на кортекс надбубрежне жлезде и стимулише стварање натријум-задржавајућег хормона - алдостерона. Алдостерон посредује у свом ћелијском дејству везујући се за минералокортикоидни рецептор (MR) (*Chai et al., 2006; Hsu CN u Tain YL, 2021*).

У читавом систему почевши од ренина преко ангиотензина 1 и 2, до продукције алдостерона имамо ефекте који се последично испољавају на хипоталамус и у кардиоваскуларном систему и у кори надбубрега па у тој спрези долази до продукције алдостерона што све за последицу има повећану жеђ и унос воде, вазоконстрикцију, ретенцију Na и воде што све скупа доводи до повећања артеријског крвног притиска (*Phillips MI et al., 1999; Ferrari R, 2013*). Сходно томе оставља се могућност да се делује на РААС на различитим нивоима селективно колико је то потребно за сваког пацијента понаособ. Сам систем ренин ангиотензин је такав да постоје различити рецепторски системи и потребни су лекови који ће имати високу селективност. Рецимо блокадом AT₁ рецептора постижу се повољна дејства на кардиоваскуларни систем, која подразумевају вазодилатацију и ослобађање NO, антипролиферативни и антитромботски ефекат, али зато ће активацијом AT₁ постојати вазоконстрикција, ослобађање алдостерона, хипертрофија, пролиферација, фиброза тј. све оно што није жељена активност, односно жељени ефекат. Дакле, потенцијално нежељени ефекти AT₁ и алдостерона односе се на срце у смислу миокардне хипертрофије и интерстицијумске фиброзе, на крвне судове у смислу ендотелне дисфункције, пада продукције NO, инфламације, вазоконстрикције, на бубреге у смислу повећања интрагломеруларног притиска, протеинурије и повећања реапсорпције Na, на надбубрежне жлезде повећаном продукцијом алдостерона и

активношћу симпатикусног нервног система и на факторе коагулације са повећањем фибриногена и активације тромбоцита. И AT_1 и алдостерон представљају важне медијаторе срчаног ремоделовања, стимулишу фибробласте, узрокују хипертрофију миоцита и фиброзу, што нам отвара нова индикациона подручја и даје нам могућности да употребимо лекове како бисмо деловали на различитим нивоима у различитим кардиоваскуларним обољењима (Ames MK et al., 2019). Неопходно је да инхибирамо систем ренин ангиотензин нисходно од места где би деловали употребом АЦЕ инхибитора и селективно блокирамо већину дејстава AT_1 и алдостерона попут контракције васкуларних мишића, жеђи, секреције алдостерона, новог ослобађања катехоламина из бубрега. Суштина је да од целокупног система ренин ангиотензин добијемо ефекте које сматрамо повољним, а да блокирамо оне који нису тј. да блокирамо васоконстрикцију и ретенцију соли првенствено Na и хипертрофију, а да са друге стране омогућимо инхибицију целуларне пролиферације. То нам даје могућности да у свим КВ болестима у читавом КВ континууму почевши од фактора ризика са хипертензијом преко коронарне болести, терминалног стадијума срчане инсуфицијенције имамо могућност да употребимо лекове и да добијемо жељене ефекте лечења. Када смо код хипертензије јако дуг временски период се користе различити лекови и даје се примат одређеним лековима.

Систем RAAS у генези артеријске хипертензије

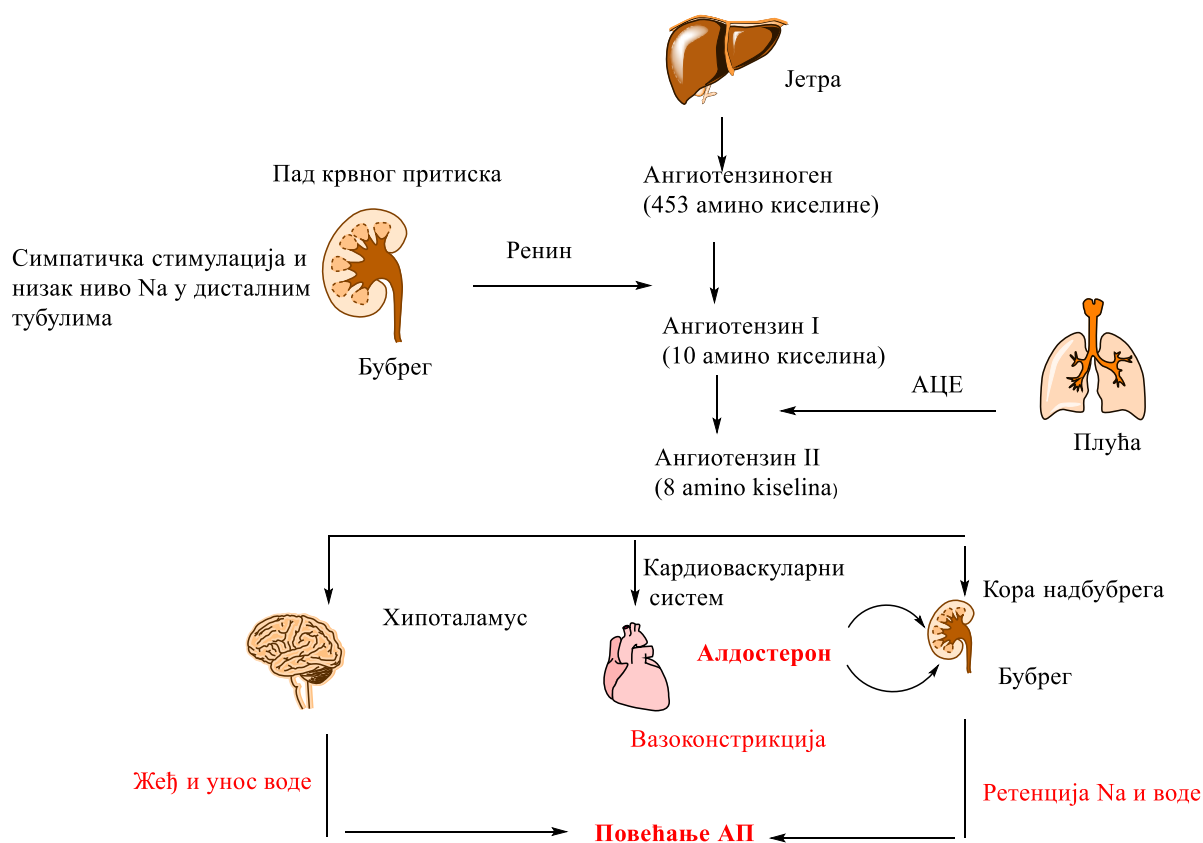


Схема 1. РААС систем у генези артеријске хипертензије

Од 1990. године почињу интензивно да се користе лекови који ће деловати на систем РААС јер се проценило да ће ефекат бити најповољнији и направљене су нове

смернице у циљу најнапреднијег бенефита. Кад је реч о диуретској терапији постоје различите могућности, деловања на систем РААС употребом диуретика који чувају К, затим употребу тиазидних диуретика, диуретика Хенлеове петље. Па тако можемо директно деловати на ренин употребом директних ренин инхибитора, или на продукцију АЦЕ употребом АЦЕ инхибитора, или на саме рецепторе ангиотензин 2 употребом блокатора рецептора за ангиотензин и коначно можемо деловати на алдостеронске рецепторе, тј. на већ излучену количину алдостерона употребом одговарајућих блокатора, односно спиронолактона (*Ferrari R, 2013*).

1.2. Дефиниција артеријске хипертензије

Артеријски притисак представља производ срчаног рада и периферног отпора (*Ganong, 2012*). Дефиниција хипертензије се разликује у различитим смерницама, али су индикације за антихипертензивну терапију релативно сличне.

Према дефиницији Светске здравствене организације (СЗО), хипертензија представља пораст артеријског крвног притиска изнад вредности 139/89 mmHg удружену са бројним компликацијама на органским системима (*WHO, 2022*).

Према смерницама Европског кардиолошког друштва/Европског друштва за хипертензију (*European Society of Cardiology/European Society of Hypertension – ESC/ESH*) која је објављена 2018. године артеријска хипертензија (АХ) дефинише се као вредност СКП/ДКП веће од 140/90 mmHg али сугерише и да је циљани систолни крвни притисак код особа млађих од 65 година требало да буде у опсегу од 120-129 mmHg (*McCormack et al., 2019*). И поред доступности велике групе лекова у терапији и сталних утицаја на јавност о значају преваленције број оболелих од АХ се повећава, а процењује се пораст оболелих од АХ до 2025. године око 15-20 %, што представља 1,5 милијарде оболелих широм света (*Williams B et al., 2018*). Осим тога што артеријска хипертензија представља главни узрок кардиоваскуларних болести у свету, она последично доводи и до оштећења других органа, као што су срце, бубрези, крвни судови, и представља водећи узрок морталитета и морбидитета, велики број студија показао је да је хипертензија један од најћешћих фактора ризика за развој акутног инфаркта миокарда. Скоро 25-30% акутних инфаркта миокарда настаје као последица хипертензије. Хипертензија активира симпатички нервни систем, систем РААС и доводи до последичног истезања и повећања дијаметра леве коморе, структуралног ремоделовања коморе које за последицу имају развој коморских аритмија и доводи до изненадне срчане смрти хипертензивних пацијената. Хипертензија појачава системску инфламацију, убрзава развој коронарне ендотелне дисфункције, подиже ниво оксидационог стреса и смањује активност протеин киназе G, доводећи до повећане крутости миокарда и ремоделовања кардиомиоцита и развоја миокардне фиброзе (*Mancia G et al., 1997*).

1.2.1. Епидемиолошки подаци о артеријској хипертензији

Висок крвни притисак је међу главним узрочницима смртности у свету и главни фактор ризика за КВБ. Већина људи са повишеним крвним притиском нема симптоме и дијагностикује се само скринингом, здравственим прегледом или када имају кардиоваскуларни догађај, као што је мождани удар, срчани удар или срчана инсуфицијенција. Смањење преваленције повишеног крвног притиска један је од девет циљева Глобалног акционог план СЗО за превенцију и контролу незаразних болести.

Доступан је низ исплативих интервенција на нивоу популације и појединца за спречавање и контролу повишеног крвног притиска.

Дијагноза и лечење хипертензије треба да буду приоритетна јавно здравствена интервенција у свим земљама, као и главна компонента сваког програма који има за циљ смањење КВБ (*Bovet P et al., 2023*)

Преваленција високог крвног притиска Глобални број особа са високим крвним притиском се удвостручио у последњих 30 година, погађајући око 1,3 милијарде људи у 2019 (*NCD-RisC, 2021*) и тај број ће наставити да расте због раста и старења становништва.

Преваленција хипертензије у већини земаља креће се од 2–10% у доби од 5–30 година до 15–40% (30–60 година) и 30–60% (60+ година). Због тога је важно стандардизовати узраст када се пореди преваленција високог крвног притиска у различитим популацијама или током времена. Чини се да се средњи крвни притисак стандардизован по годинама смањило између 1975. и 2015. године у земљама са високим приходима, али са различитим трендовима у другим земљама, што одражава разлике у превенцији, лечењу и напредовању хипертензије међу земљама (*Zhou B et al., 2021*).

Висок крвни притисак изазвао је 10,9 милиона смртних случајева широм света (19,2% свих смртних случајева) у 2019. години, од којих се 92% може приписати КВБ (углавном срчани удар, срчана инсуфицијенција и мождани удар), а 8% се може приписати болести бубрега.

Укупни терет болести који се може приписати високом крвном притиску повећао се између 1990. и 2019. у већини региона (осим у земљама са високим приходима), углавном због раста и старења становништва. Међутим, старосно стандардизоване стопе морталитета које се могу приписати високом крвном притиску смањиле су се у већини земаља између 1990. и 2019. године, израженије у високо развијеним земљама него у оним са нижим приходима, делимично одражавајући бољу превенцију и контролу у првим него у другим земљама (*Bovet et al., 2023*).

Инциденција атеросклерозе се повећава у хипертензији, па су инфаркти миокарда уобичајени чак и када срце није увећано. Процењује се да 1,3 милијарди људи болују од АХ широм света и да ће се овај број повећати за отприлике 15–20% до 2025. године (*Williams et al., 2018*).

Управо овако забрињавајући подаци о броју пораста људи који болују од АХ, до тих размера да поприма карактер епидемије, је разлог зато су антихипертензивни још увек фокус истраживања.

1.2.2. Врсте артеријске хипертензије

Већина случајева (90%) АХ је класификована као есенцијална или примарна. Секундарна АХ је када је етиологија позната и јавља се у само око 10% дијагностикованих АХ (*Miñoz-Durango et al., 2016*). АХ може бити узрокована бубрежним, кардиоваскуларним, неуролошким или ендокриним болестима, као нпр. апнеја у сну, хипералдостеронизам, болести паренхима бубрега, стеноза бубрежне артерије, болести штитне жлезде, Кушингов синдром или феохромоцитом.

Есенцијална хипертензија је најчешћи облик хипертензије који се не може повезати са другим здравственим проблемима. То је обично резултат нездравог начина живота, као што су гојазност, нездрава исхрана, недостатак физичке активности и стрес.

Секундарна хипертензија је врста хипертензије која се јавља као резултат другог здравственог проблема, као што је болест бубрега, хормонска неравнотежа или сужавање артерија које снабдевају бубреге.

Малигна хипертензија је редак и озбиљан облик хипертензије који се изненада развија и може довести до срчане инсуфицијенције, можданог удара или отказивања бубрега.

Изолована систолна хипертензија се односи на стање где је само систолни крвни притисак повишен, док је дијастолни крвни притисак нормалан.

Хипертензија у трудноћи је висок крвни притисак настао током gravidитета и представља опасност како по живот мајке тако и по живот њеног neroђеног детета.

Реноваскуларна хипертензија као један од најчешћих узрока секундарне хипертензије широко је проучавана као прототип ангиотензин зависне хипертензије. Велика већина случајева је узрокована атеросклеротским лезијама праћеним фибромускуларном дисплазијом, али различити узроци као што су дисекција бубрежне артерије или емболија могу изазвати исте симптоме (*Herrmann SM et al., 2019*).

Плућна хипертензија није сама по себи дијагноза, већ искључиво хемодинамско стање које карактерише средњи притисак плућне артерије у мировању од ≥ 25 mmHg. Термин плућна артеријска хипертензија описује подгрупу која се хемодинамски разликује по прекапиларној плућној хипертензији са повишеним плућним васкуларним отпором. За дијагнозу плућне артеријске хипертензије не морају бити испуњени само ови критеријуми, већ морају бити искључени и други облици прекапиларне плућне хипертензије. Ово се посебно односи на болести плућа и хроничну тромбоемболијску плућну хипертензију, али и на болест левог срца са нормалним притиском плућне артерије. Плућна хипертензија никако није неуобичајена, напротив, погађа око 1% светске популације. Сматра се да је преваленција плућне хипертензије код особа старијих од 65 година око 10%. Међутим, различити облици плућне хипертензије значајно се разликују по учесталости и преваленци (*Hooper MM et al., 2017*).

1.2.3. Класификација артеријске хипертензије

Смернице клиничке праксе Америчког кардиолошког колеџа/Америчког удружења за срце (енгл. *American College of Cardiology/American Heart Association – ACC/AHA*) из 2017. и *ESC/ESH* из 2018. за управљање високим крвним притиском/хипертензијом су базалне водиле у избору третмана. Обе смернице су свеобухватне, развијене су коришћењем ригорозних процеса и подвргнуте опсежној ревизији.

Најзначајнија разлика између ове 2 смернице су граничне тачке крвног притиска које се препоручују за дијагнозу хипертензије. Такође постоје разлике у времену и интензитету лечења, при чему смерница *ACC/AHA* препоручује нешто интензивнији приступ. Све у свему, постоји значајна сагласност у препорукама које су дала 2 комитета за писање смерница, са већом подударношћу међу њима него њихови претходници. Додатно усклађивање будућих смерница помогло би да се истакне заједништво њихових основних препорука и могло би да послужи за каналисање промена у пракси које би довеле до побољшане превенције, подизања свести, лечења и контроле хипертензије, широм света.

Најочигледнија разлика између *ACC/AHA* и *ESC/ESH* смерница је њихов приступ класификацији крвног притиска и граничних тачака крвног притиска препоручених за идентификацију хипертензије.

ACC/AHA предлаже категорије за:

- нормалан крвни притисак ($<120/80$ mmHg),
- повишен крвни притисак ($120-129/<80$ mmHg),

- хипертензија стадијум 1 (130-139/80-90 mmHg),
- хипертензија стадијум 2 ($\geq 140/90$ mmHg),

Ово је промена у односу на претходни Заједнички национални комитет 7 упутства за клиничку праксу из 2003. године, који је препоручио употребу СКП-а и/или тачка пресека ДКП-а од 140 и/или 90 mmHg, осим код одраслих са дијабетесом мелитусом или хроничном болешћу бубрега, где је препоручена тачка пресека СКП и/или ДКП од 130 и/или 80 mmHg.

ESC/ESH класификује крвни притисак на:

- оптимални крвни притисак ($< 120/80$ mmHg),
- нормалан крвни притисак (120-129/80-84 mmHg),
- висок нормалан крвни притисак (130-139/85-89 mmHg),
- хипертензија стадијум 1 (140-159/90-99 mmHg),
- хипертензија стадијум 2 (160-179/100-109 mmHg),
- хипертензија стадијум 3 ($\geq 180/\geq 110$ mmHg),
- изоловану систолну хипертензију 2 ($\geq 140/< 90$ mmHg)

Задржава исти СКП ≥ 140 mmHg и/или ДКП \geq Тачке пресека од 90 mmHg за дијагнозу хипертензије препоручене у претходној ESC/ESH хипертензији упутства за клиничку праксу из 2013 године.

Потенцијални утицај смерница АСС/АНА на становништво САД процењен је анализом Националног истраживања о здрављу и исхрани из 2011. до 2014. године. У овој анализи, 24,1% одраслих у САД ≥ 20 година старости су пријавили да су узимали антихипертензивне лекове и стога се сматрало да имају хипертензију. Од оних који нису узимали антихипертензивне лекове, 7,7% је имало СКП ≥ 140 mmHg или ДКП ≥ 90 mmHg, а 13,7% имало је СКП 130 до 139 mmHg или ДКП 80 до 89 mmHg, што је довело до 46% преваленције хипертензије код одраслих који су користили граничне тачке СКП ≥ 130 mmHg и/или ДКП ≥ 80 mmHg у поређењу са преваленцијом од 32% када су коришћене граничне тачке СКП ≥ 140 mmHg и/или ДКП ≥ 90 mmHg (Muntner *P et al.*, 2018). Процене преваленције које користе 2 дефиниције хипертензије биле су нескладније у млађој него у старијој доби, и код мушкараца у поређењу са женама. Све у свему, АСС/АНА рекласификација КП је резултирала процењеним повећањем популације у преваленци хипертензије од $\approx 14\%$.

АСС/АНА категоризација је једноставнија и обухвата више ризика повезаних са КП и КВБ. Међутим, то доводи до већег изазова за здравствене раднике у поређењу са ESC/ESH или претходним Извештајем Заједничког националног комитета 7, јер означава хипертензију код већег процента одраслих и постоји потреба за проценом ризика основне атеросклеротичне КВБ за одлуке о лечењу, посебно код одраслих са хипертензијом АСС/АНА стадијума 1.

Класификациони систем ESC/ESH има више категорија крвног притиска, али пружа једноставнији приступ одлукама о примени антихипертензивне терапије, непромењен у односу на претходне препоруке европских смерница (Paul *K et al.*, 2022).

1.3. Терапијски протоколи артеријске хипертензије

1.3.1. Евалуација пацијента

И АСС/АНА и ESC/ESH смернице препоручују прибављање личне и породичне историје, обављање физичког прегледа који укључује мерење крвног притиска и спровођење основних лабораторијских тестова. Иако се специфичности у погледу лабораторијских тестова преклапају у захтевима за глукозу у крви наташте, крв/серум натријум и калијум, профил липида, креатинин у серуму/процењену брзину гломеруларне филтрације, анализу урина и ЕКГ, постоје и разлике у захтевима, па тако АСС/АНА препоручује комплетну крвну слику, серумски калцијум и хормон који стимулише штитњачу, а ESC/ESH препоручује одређивање хемоглобин/хематокрита, мокраћне киселине у крви, гликозилованог хемоглобин А1с, тестове функције јетре, тест протеина у урину или, идеално, однос албумин-креатинин у урину.

Ехокардиограм, мокраћна киселина и однос албумина и креатина у урину су опциони тестови у АСС/АНА смерници.

У ESC/ESH, ехокардиографија, ултразвук каротида, брзина пулсног таласа, скочно-брахијални индекс, тестирање когнитивних функција, и снимање мозга су додатни тестови који се могу користити за препознавање оштећења органа изазваног хипертензијом (*Paul K et al., 2022*).

1.3.2. Процена кардиоваскуларног ризика

Процена ризика од КВБ идентификује особе са повећаним ризиком за главне компликације хипертензије, укључујући оштећење циљних органа и смрт. Обе смернице препоручују процену ризика од КВБ као допуну нивоу КП за одлуке о антихипертензивном лечењу, при чему ESC/ESH смерница такође наглашава важност предвиђања ризика од КВБ за разматрање истовремених интервенција као што су статини и антиагрегационе терапије.

Ове две смернице се разликују по својим методама за процену ризика и по употреби информација о ризику у доношењу одлука за лечење антихипертензивним лековима. АСС/АНА прописује релативно једноставан приступ у којем присуство КВБ аутоматски указује на висок ризик. У одсуству КВБ, ризик од атеросклеротичне кардиоваскуларне болести (АСКВБ) код одраслих од 40 до 79 година се процењује коришћењем АСС/АНА обједињених кохортних једначина (*Conroy RM et al., 2003*) који су потврђени код одраслих америчких белаца и црнаца. АСС/АНА проценитељ АСКВБ ризика (*ASCVD 2021*) заснива се на старости; висини СКП, ДКП; укупном холестеролу и холестеролу високе и ниске густине; историји дијабетес мелитуса; тренутном статусу пушења; и лечењу антихипертензивном терапијом, статинима или аспирином.

Одрасли са постојећом КВБ, укључујући асимптоматску атероматозну болест на снимању, дијабетес мелитус тип 1 или 2, веома висок ниво појединачних фактора ризика за КВБ или хроничну болест бубрега, сматрају се под високим или веома високим ризиком (10-годишњи морталитет од КВБ од 5%-10 % и $\geq 10\%$, респективно). За све остале, 10-годишњи ризик смртности од КВБ треба проценити коришћењем процене ризика систематске процене коронарног ризика (*Systematic Coronary Risk Evaluation - SCORE*) (*EAPC 2021*).

SCORE ризик се процењује на основу старости, пола, укупног холестерола или укупног холестерола и холестерола липопротеина високе густине, статуса пушења и нивоа СКП. Иако нису укључене у SCORE, ESC/ESH смернице препоручују да се број

откуцаја срца такође бележи током мерења крвног притиска и број откуцаја срца у мировању већи од 80 откуцаја/мин сматра се кардиоваскуларним фактором ризика.

ESC/ESH ставља нагласак на важност разматрања оштећења органа посредовано хипертензијом (*Hypertension-Mediated Organ Damage* - HMOD) у процени ризика од КВБ. Коморбидитети као што су хронична болест бубрега, хипертрофија леве коморе и дијабетес мелитус укључени су у SCORE алат за процену ризика. Смернице такође укључују табелу фактора корекције израчунавања ризика SCORE према етничкој припадности. Најзад, ESC/ESH смернице користи систем класификације заснован на нивоима крвног притиска, категоријама HMOD, других фактора ризика за КВБ и/или присуство саме КВБ, како би се илустровало повећање ризика када се фактори ризика удруже. И ESC/ESH и ACC/AHA смернице препознају изазове са употребом и тумачењем алата за процену ризика КВБ/АСКВБ (*Paul K et al., 2022*).

1.3.3. Нефармаколошки протоколи снижавања крвног притиска

Лечење АХ се заснива на модификацији животног стила и фармакотерапији. Примарни циљ терапије за све пацијенте је дефинисан као крвни притисак $< 140/90$ mmHg. Уз добру толеранцију третмана, циљ треба да буде $\leq 130/80$ mmHg. Промене у начину живота које имају за циљ снижавање крвног притиска треба да се заснивају на уравнотеженој исхрани са мало соли, повећаном уносу воћа и поврћа, целовитих житарица, рибе, орашастих плодова и семенки, смањеном конзумирању алкохола и подразумева адекватан унос калијума и смањењу телесне масе код гојазних. Препоручује се престанак пушења, јер може повећати крвни притисак и повећати ризик од настанка срчаних обољења; избегавање стреса; одржавање одговарајуће телесне тежине и редовна физичка активност. Бављење различитим рекреативним активностима, као што су ходање, трчање, пливање, вожња бицикле или вежбе снаге, може помоћи у снижавању крвног притиска. Губитак тежине код гојазних особа може довести до снижења крвног притиска. Технике опуштања, као што су медитација, јога, дубоко дисање и масажа, могу помоћи у смањењу стреса и крвног притиска (*Jordan et al., 2018*).

Код великог процента одраслих, висок крвни притисак је повезан са нездравом исхраном, недостатком физичке активности и/или употребом алкохола. Стога, обе смернице идентификују модификовање начина живота као камен темељац за превенцију и лечење хипертензије. У ACC/AHA, здрава исхрана, посебно дијететски приступи заустављању хипертензије, губитак тежине код одраслих који имају прекомерну тежину/гојазни, смањење натријума у исхрани, повећан унос калијума исхраном, физичка активност и умереност или апстиненција од алкохола се препоручују за превенција и лечење хипертензије. Слично, у ESC/ESH, здрава исхрана, посебно медитеранска дијета, губитак тежине код одраслих који имају прекомерну тежину/гојазност, смањење натријума у исхрани, физичка активност и умереност у конзумирању алкохола идентификовани су као основна стратегија за превенцију и управљање хипертензија. Обе смернице препоручују престанак пушења ради превенције КВБ (*Paul K et al., 2022*).

Смањење уноса соли, засићених масти и калорија може помоћи у снижавању крвног притиска. Светска здравствена организације је објавила глобалне препоруке, засноване на научним доказима, које говоре о томе да популација >16 година треба да ограничи уносу натријума на < 2 g дневно (< 5 g соли) како би се снизио крвни притисак, а са тим последично и ризик за кардиоваскуларне болести и коронарну болест. Препоруке за смањеним уносом соли предложене су и за популацију узраста <16 година,

како би се вредности крвног притиска одржале у референтном опсегу, пропорционално њиховим како годинама тако и према енергетским потребама (*WHO 2012*).

Поред увођења различитих лекова, потенцира се значај физичке активности како за превенцију тако и у терапији АХ. Постоје јасни докази о снижењу КП међу пацијентима којима је дијагностикована есенцијална хипертензија. Предклиничка истраживања у којима су били укључени спонтано хипертензивни *Dahl* пацови осетљиви на со, затим они код којих је хипертензија изазвана деоксикортикостерон ацетатом (ДОСА), или пак манипулацијом бубрежних артерија (*Goldblatt* модел) указала су да физичка активност нижег или умеренијег интензитета, смањује крвни притисак, али и одлаже пораст истог.

Тачан механизам утицаја вежбања на крвни притисак и данас није у потпуности разјашњен. Према неким ауторима реч је последицом смањења отпора периферних судова (*Kuru O et al., 2002*) насталом као последица деловања на барорецепторни рефлекс срчаног мишића који представља главну тачку у контроли крвног притиска. Осцилације крвног притиска забележене на рецепторима у луку аорте и каротдном синусу, који реагују на истезање, доводе до дејства вагуса и симпатикуса на синоатријални чвор што се одражава и на контролу срчаног ритма. Поремећај аутономне контроле забележен је код скоро половине особа које болују од најзаступљенијих хроничних незаразних болести (дијабетес мелитус, повишен крвни притисак, хиперхолестеролемија) и означен је као значајан узрочник повећаног морбидитета и морталитета. Такође је показано да оштећена барорефлексна сензитивност повећава инциденцу морталитета код ове популације пацијената. Разматране су различите врсте активности и недавно је објављена проспективна студија у којој је мерена ефикасност аеробног типа тренинга на барорфлексну сензитивност.

Истраживање је спровела група истраживача са Универзитета у Канади, на 45 особа старости изнад 65 година код којих је био забележен неки од кардиоваскуларних ризика. Праћен је ефекат 12-онедељног тренинга аеробног типа на барорфлексну сензитивност. Закључак овог истраживања је да аеробни тип тренинга повећава барорефлексну сензитивности испитаника (*Madden KM et al., 2010*).

Као друга опција утицаја вежбања на крвни притисак истиче се промена у активности симпатичког нервног система, активација синтезе адренергичних хормона, боља осетљивост на дејство инсулина настала услед увећања мишићног ткива и утицај на РААС.

Повећање протока и прокрвљеност ткива настале у току вежбања доводе до дилатације крвних судова и смањења периферног отпора насталог као последица повећане синтезе азот-монооксида (NO) у ендотелу крвног суда, а који се јавља као одговор на стрес услед напора или услед стресом повећане експресије гена за ензим - NO синтетаза (*Kuru O et al., 2002*).

1.3.4. Фармаколошки протоколи снижавања крвног притиска

Смернице ESC/ESH 2018 су потврдиле да су 5 главних класа антихипертензивних лекова препоручених за терапију хипертензије: диуретици (тиазидни и диуретици слични тиазидима као што су хлорталидон и индапамид), антагонисти бета адренергичких рецептора, антагонисти калцијумских канала, инхибитори ангиотензин конвертујућег ензима (АЦЕ-инхибитори) и блокатори ангиотензинских рецептора, погодних за почетак и лечење хипертензије, било као монотерапија или у комбинованој терапији. Монотерапија се код већине хипертензивних пацијената показала као

неефикасна, па се све чешће лечење хипертензије започиње комбинацијом два лека, тако да нове смернице напуштају препоруке монотерапије како би се минимизовали ниска адхеренција и терапијска инерција које су главни узроци слабе контроле крвног притиска код хипертензивних пацијената (*Borghi et al., 2022*).

Камен темељац лечења хипертензије представља примену комбинација АЦЕ-инхибитора или блокатора ангиотензинских рецептора и диуретика. АЦЕ-инхибитори и блокатори ангиотензинских рецептора су стубови АХ терапије, јер осим антихипертензивног ефекта имају већу ефикасност у смањењу албуминурије, ефикаснији су од других лекова у спречавању развоја коморбидитета међу којима су најзначајнији дијабетес и бубрежна инсуфицијенција, хипертрофија леве коморе и развој атријалне фибрилације (*Williams et al., 2018*). Такође, студије су показале да је коришћење комбинације тиазида и диуретика који штеде калијум (амилорид, спиронолактон) еквивалентна терапији блокатора калцијумских канала у смањењу кардиоваскуларног и цереброваскуларног морталитета (*Brown et al., 2000*).

Систем RAAS

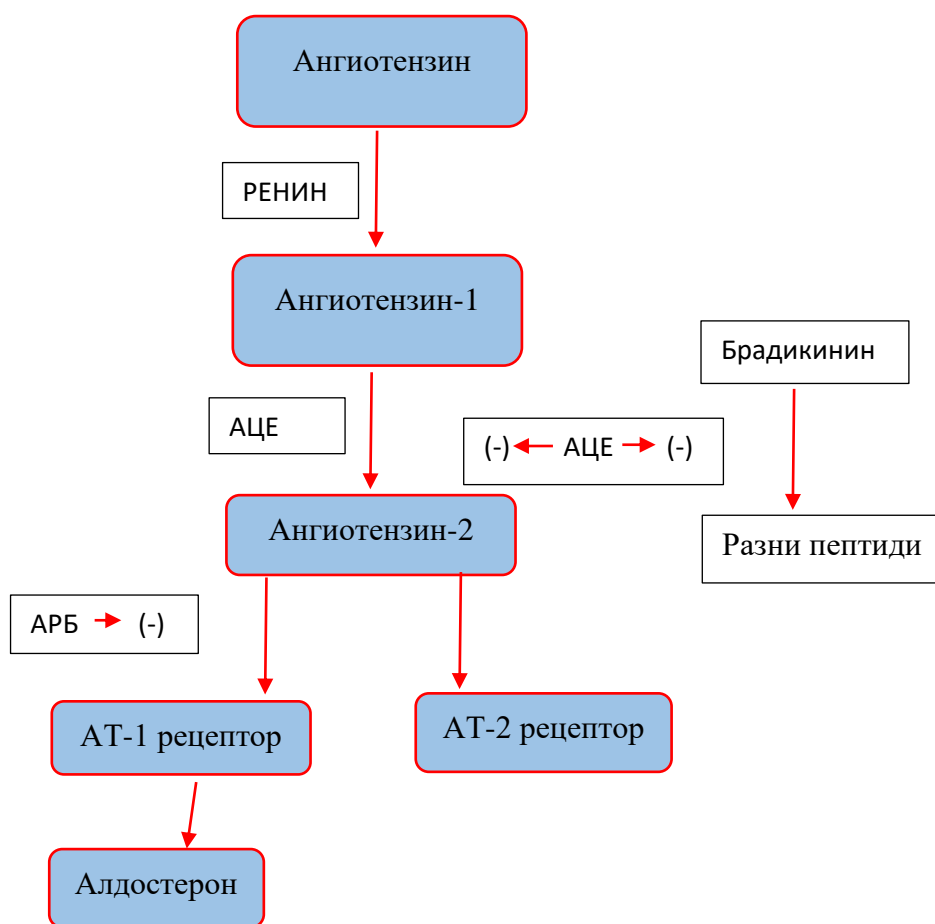


Схема 2. Схематски приказ RAAS система

1.3.4.1. Инхибитори ангиотензин конвертујућег ензима (АЦЕ-инхибитори)

АЦЕ-инхибитори су класа лекова који се примењују у терапији хипертензије и срчане инсуфицијенције. Инхибирају активност ензима ангиотензин конвертазе (АЦЕ), који се експримира у плућним ендотелним ћелијама и који конвертује ангиотензин I у ангиотензин II и хидролизује брадикинин (*Herichova et al., 2013*). Смањена концентрација ангиотензина II који је вазоконстриктор и повећање нивоа брадикинина који је вазодилататор доводи до снижавања вредности крвног притиска. Могу се користити као монотерапија али је све чешће у употреби њихова примена са другим антихипертензивним лековима.

АЦЕ-инхибитори су класификовани у три групе на основу хемијске структуре коју садрже:

- АЦЕ-инхибитори који садрже сулфхидрилну групу (каптоприл, зофеноприл);
- АЦЕ-инхибитори који садрже дикарбоксилатну групу (еналаприл, цилазаприл, рамиприл, квинаприл, периндприл, лизиноприл, трандолаприл, спираприл, беназприл, делаприл, мексиприл, темокаприл);
- АЦЕ-инхибитори који имају фосфонатну групу (фосиноприл).

Сулфхидрилни АЦЕ-инхибитори имају посебне аспекте у односу на друге групе који доприносе њиховим фармаколошким својствима, као што је већа липофилност и боља пенетрација у ткиво; нижи ефекат зависан од брадикинина; већи афинитет и трајније везивање за ткивни АЦЕ (срчани, бубрежни, васкуларни); значајан антиоксидативни ефекат (*Borghini et al., 2004*).

Потенцијал сулфхидрилних АЦЕ-инхибитора у уклањању радикалних врста кисеоника претпоставља се као кардиопротективни фактор ове класе једињења (*Borghini et al., 2022*). Сулфхидрилна група која је снажан донор протона у претклиничким студијама показала је значајну антиоксидативну активност кроз повећање биорасположивости водоник сулфата (H₂S) и нивоа азотног оксида (NO) путем сигнализације зависне од брадикинина (*Donnarumma et al., 2016*).

Најновији сулфхидрилни АЦЕ-инхибитор који је доступан на европском тржишту је зофеноприл. Зофеноприл је јединствен у стварању дуготрајне и селективне инхибиције АЦЕ срчаног ткива, што је последица ефикасног преузимања пролека у срчано ткиво и његове брзе хидролизе под дејством срчаних естераза до активног инхибитора - зофеноприлата, који има сулфхидрилну групу у својој структури. У студијама на експерименталним моделима исхемије-реперфузије (И/Р), показао је побољшање пост-исхемичне функције леве коморе, повећан коронарни проток и смањење пероксидације липида током реперфузије (*Ferrari et al., 1992*).

1.3.4.2. Диуретици

Диуретици су фармакотерапијски лекови који по самом пореклу речи – *diuresis*, која значи мокрење, представљају супстанце које повећавајућу проток урина, појачавају мокрење и доводе до излучивања течности (*Kažić T., 2009*). Своје дејство већина остварује на нивоу бубрежних тубула, смањењем реапсорпције Na⁺, што утиче на смањење луминално-ћелијског осмотског градијента који доводи до смањење реапсорпције воде и последичне диурезе. Након оралне примене и секреције у проксималним тубулима диуретици доспевају до тубуларног епитела што је и предуслов за остваривање диуретичног дејства. Селективном инхибицијом специфичних транспортера Na⁺ у Хенлеовој петљи или дисталном нефрону повећавају излучивање у

највећој мери Na^+ и Cl^- а тиме доводе до „соне,, диурезе и излучивања воде путем мокраће (Табела 1).

Клинички значај употребе диуретика у терапији хипертензије документован је од раније, самостално или у комбинацији са осталим антихипертензивним лековима. Као главни разлози употребе диуретика у циљу снижавања повишених вредност крвног притиска наводе се препознавање ефикасности нижих доза чиме се смањују нежељени ефекти, укључујући и негативне метаболичке ефекте (*Musini VM et al., 2014*), као и супериорност у превенцији секундарних кардиоваскуларних догађаја који су укључивали морталитет, мождани удар и друге кардиоваскуларне болести у односу на друге антихипертензивне лекове нарочито код старијих особа (*Group TA et al., 2002*).

Према различитим критеријумима који обухватају место дејства, механизам деловања и хемијску структуру класификују се у 4 групе:

- инхибитори угљене анхидразе (ацетазоламид и метазоламид) који се најчешће користе у терапији глаукома;
- диуретици Хенлеове петље (буметадин, етакринска киселина, фуросемид и торсемид);
- тиазиди и тиазидима слични диуретици (бендрофлуметазидин, хлортиазид, хлорталидон, хидрохлортиазид, индапамид, метолазон и политиазид);
- диуретици који штеде калијум (амилорид, еплеренон, спиронолактон и триамтерен).

Тиазиди и тиазидима слични диуретици

Тиазиди и тиазидима слични диуретици су важна група лекова који се користе у лечењу артеријске хипертензије. Откривени су 50-их година 20. века и представљају главни ослонац у лечењу хипертензије (*Roush GC et al., 2014*).

Тиазидни диуретици инхибирају котранспортер који преноси Na^+ и Cl^- из лумена у ћелије тубула. Ове две врсте диуретика делују преко луминалне стране тубула и неопходно је њихово излучивање у лумен тубула. Већ више од 50 година тиазидни диуретици (хидрохлортиазид) се користе у првој линији терапије АХ, због добре подношљивости и доказане ефикасности у снижавању крвног притиска. Поред њих у употреби су и тиазидима слични диуретици (индапамид), који имају доказано већу антихипертензивну ефикасност и без значајних штетних метаболичких ефеката.

Иако је очигледан њихов благотворни терапеутски ефекат у монотерапији, они се све више користе у фиксним комбинацијама, посебно са АСЕ-инхибиторима или сартанима. Најчешће коришћен тиазидни диуретик у терапији хипертензије је хидрохлортиазид. Међутим, бројне студије показале су супериорност других лекова из ове групе, хлорталидона и индапамида (*Roush et al., 2015*). Студија поређења хидрохлортиазида у односу на индапамид и хлортиладон показала је јаче антихипертензивно дејство, дуже трајање, али и бољи безбедоносни профил тиазидима сличних диуретика. Код око 40% хипертензивних пацијената долази до развоја хипертрофије леве коморе која представља узрок даљих кардиоваскуларних догађаја, и повећања смртности за чак 30% (*Fagard RH et al., 2009*). Тиазидни диуретици спадају у групу лекова који смањују масу леве коморе, али студије истичу предност индапамида, хлорталидона и диуретика који штеде калијум у односу на хидрохлортиазид у смањењу масе леве коморе (*Antikainen RL et al., 2016*).

У ранијим студијама показано је да индапамид смањује кардиоваскуларне догађаје, али нема доказа да хидрохлортиазид има утицаја на кардиоваскуларне догађаје и не постоје рандомизована контролисана испитивања која директно упоређују утицаје тиазидних диуретике самих или са диуретичима који штеде калијум (спиронолактон) у

односу на кардиоваскуларне исходе као што је исхемијско-реперфузиона повреда, коју карактерише погоршање ћелијске деструкције и дисфункција након поновног успостављања протока крви у исхемично ткиво (*Krzemińska J et al., 2022*).

Диуретици који штеде калијум

Диуретици који штеде калијум блокирају у сабирним каналићима алдостеронске рецепторе у цитосолу (спиронолактон), или Na^+ канале на мембрани (амилорид, триамтерен). Како делује на нивоу ћелија минералкортикоидни блокатори не захтевају излучивање у лумен тубула (*Puschett JB, 1994; Ferrari P et al., 2000*).

Клиничка испитивања алдостерона код пацијената са срчаном слабошћу, уверљиво су показала да МР антагонисти смањују смртност код пацијената са срчаном слабошћу и систолну дисфункцију леве коморе после миокардног инфаркта имају предност у погледу на АСЕ инхибицију (*Pitt B et al., 1999*). Конкретно, примећено је смањење стопе изненадне смрти. Ови резултати скрећу пажњу на значај алдостерона као независног фактора ризика у патофизиологији кардиоваскуларних болести. Предност МР антагониста током блокаде РАС још увек није потпуно схваћена. Њихови ефекти се не могу приписати само блокади бубрежних МР-посредованих ефеката на крвни притисак (*Pitt B et al., 1999; López B et al., 2001*). Накнадне студије перфузије са алдостероном у изолованом срцу (*Chai W et al., 2006*) показале су да се стероид брзо акумулира у срчаном ткиву, не само у ванћелијској (интерстицијској) течности, већ и у другом, још увек неидентификованом делу. Тако, с једне стране, срце показује велики капацитет за нагомилавање алдостерона. Већина срчаног алдостерона, ако не и сви, потиче из циркулације, тј. не синтетише се локално, ни у нормалним ни у патолошким условима. Главно место синтезе алдостерона је кора надбубрега, али поред њега доказано је његова екстранадбубрежна синтеза како у мозгу тако и у васкуларном ткиву. Алдостерон доводи до интракардијалне фиброзе, хипертрофије леве коморе, смањења васкуларне комплијансе услед фиброзе крвних судова а све то утиче на погоршање хипертензије и развоја когнестивне срчане инсуфицијенције и повећаног ризика од кардиоваскуларних догађаја независно од утицаја на крвни притисак. Због тога све већи број истраживања разматра могућност да пацијенти са хипертензијом који нису претрпели догађаје могу имати значајну корист од блокаде минералкортикоидних рецептора у раним фазама болести (*Ruilope LM, 2008*).

Традиционално, лечење хипертензије се изводи углавном на основу ренин-ангиотензинског система (RAS), а не RAAS, уз претпоставку да ће алдостерон бити потиснут након што се блокира формирање Ang II. Међутим, стварање алдостерона не остаје сузбијено током дуже терапије блокирањем RAS. Након 3 месеца терапије, ниво алдостерона поново почиње да расте и наставља да то ради услед „реактивације Ang II“ или „бекства алдостерона“ (*Ruilope LM, 2008; Hargovan M et al., 2014; Ferreira JP et al., 2019*) и сва нежељена дејства која настају и код срчане инсуфицијенције и код резистентне хипертензије потичу од тог алдостерона. Новине у лечењу хипертензије долазе применом старог лека у новим индикационим подручјима. Кључна промена је употреба моћног антагонисте алдостерона, спиронолактона, у терапији резистентне артеријске хипертензије.

Још једна значајна промена уочена је код хипертензивних пацијената, а то је последичнично ремоделовање срчаног ткива настало као последица нагомилавања фиброзног ткива. Услед развоја фиброзе и нагомилавања колагена у миоцитима може доћи до развоја срчане инсуфицијенције и последичног инфаркта миокарда. Увођење спиронолактона у терапију хипертензије било је повезано са смањењем биомаркера синтезе колагена што потенцијално може бити предуслов за одлагање прогресије

кардиваскуларног оштећења миокарда и показати повољне ефекте на структуру и функцију срца (*Ferreira JP et al., 2019; Cleland JGF et al., 2021*)

Према смерницама из 2018. године ESC/ESH увођење малих доза диуретика који штеде калијум (спиронолактон/еплеренон) постиже се додатно снижавање крвног притиска и минимизирање негативних метаболичких ефеката тиазидних диуретика као што су хипокалемија, хипергликемија, хипонатремија, хиперлипидемија и хипомагнезмија (*Law et al., 2009*).

У терапији резистентне хипертензије осим на висину крвног притисака показано је да антагонист минералкортикоидних рецептора, спиронолактон, утиче независно од крвног притиска и на побољшање крутости аорте која је предиктор даљих кардиваскуларних догађаја, механизмом који још увек није разјашњен (*Aryal SR et al., 2021*).

Табела 1. Приказ места дејства и механизма деловања појединих диуретика

| Диуретик | Место дејство | Механизам дејства |
|------------------------------|--|---|
| Инхибори угљељене анхидразе | Проксимални тубул | Инхибиција реапсорпције бикарбоната |
| Диуретици Хенлеове петље | Асцендентни крак петље | Инхибиција транспорта Na и Cl |
| Тиазиди и сродни диуретици | Почетак дисталних тубула | Инхибиција реапсорпције Na и Cl |
| Диуретици који штеде калијум | Завршни делови дисталних тубула и сабирни каналићи | Инхибиција размене Na/K због антагонизма алдостерона(спиронолактон) или директном дејством(амилорид/триамтерен) |

1.4. Прооксиданси *in vivo* и оксидациони стрес

Као један од главних чинилаца у патогенези АХ и последичне ендотелне дисфункције, повећане васкуларне контрактилности и последичног ремоделовањем целог васкуларног корита наводи се оксидативни стрес, оксидо-антиоксидни дисбаланс, прекомерна производња реактивних кисеоничних врста (енгл. *Reactive Oxygen Species - ROS*), реактивних азотних врста (енгл. *Reactive Nitrogen Species - RNS*) и поремећај производње антиоксидативних компоненти (*Krzemińska J et al., 2022*).

Слободни радикали описани су пре више од 100 година. Иако су дуго година слободни радикали сматрани само штетним агенсима који утичу на патолошке процесе и старење новија истраживња показала су да слободни радикали учествују у многобројним регулаторним метаболичким процесима, да учествују имуном одговору, потпомажу фагоцитну антимицробну активност, и да је њихова активност регулисана хормонима, на првом месту дејством инсулина (*Lushchak VI et al., 2014*).

1.4.1. Реактивне врсте кисеоника (ROS)

Молекули који садрже један атом кисеоника и један или више неспарених електрона називају се реактивне врсте кисеоника (ROS) (Табела 2) и они кроз различите процесе како у ћелији тако и ван ње постају реактивнији од самог кисеоника. У ову групу се убрајају супероксид анјон радикал, хидроксил-радикал, хидропероксилни радикал, као радикални облици али и синглетни кисеоник који припада групи нерадикалских облика кисеоника заједно са озоном, водоник пероксидом, хипохлорном киселином и органским хидропероксидом (*Jakubczyk K et al., 2020*).

Како са једне стране доводе до ћелијске дисфункције, апоптозе и старења ћелија, а са друге стране по новијим истраживања имају улогу секундарних гласника укључујући се у развој ћелија, њихову пролиферацију и преживљавање називају их „молекули са два лица„. Утицај ROS и њихово деловање на нивоу ћелије превасходно зависе од њихове концентрације. Благо повећање покреће различите каскадне процесе који обезбеђују раст ћелије и нормално функционисање (*Valko M et al., 2007*).

1.4.1.1. Супероксид радикал

Супероксид радикал представља најреактивнији радикал. Настаје у митохондријама у току ћелијског дисања посредством ензима NADPH оксидазе којом су богати ендотел крвних судова и бубрези, и повезани су са поремећајем макромолекула у највећој мери протеина, липида и ДНК молекула (*Tauffenberger A et al., 2021*). Настаје синглетном електронском редукцијом ди-кисеоника (O_2), и врло брзо помоћу ензима супероксид дисмутазе (SOD) дисмутира у H_2O_2 (*Mailloux RJ et al., 2015*). Низак ниво и супероксид радикала и водоник пероксида су потребни за интритичку митохондријску сигнализацију и комуникацију са остатком ћелије. И један и други су битни за ћелијску функцију, а прекомерна производња изазива оксидативни стрес, оштећење ћелије и смрт, доводећи до мноштва неуролошких дефицита, срчаних поремећаја и метаболичких болести као што су дијабетес тип 2 и гојазност, па и утицај на процес старења ћелије. Уколико се не деси дисмутација, $O_2^{\cdot-}$ ступа у реакцију са азот моноксид радикалом (NO^{\cdot}) при чему настаје пероксинитрит.

1.4.1.2. Водонични пероксид

Настаје у процесу оксидативне фосфорилације у митохондријама помоћу митохондријалне супероксид дисмутазе, а настали H_2O_2 се даље уз помоћ глутатион пероксидазе претвара у H_2O . Умерена производња H_2O_2 је нетоксична и делује као сигнални молекул важан за покретање физиолошких одговора (хиперполаризација ћелијске мембране, релаксација глатке мускулатуре), али у оксидативном стресу ступа у реакцију са редукованим металима преко Fe^{2+} Фентонове реакције или преко Fe^{3+} катализованог Хабер-Вајсовог механизма при чему настаје високо реактивни хидроксилни радикал HO^{\cdot} (*Chen YR et al 2014*). Водоник пероксид није токсично једињење. Доводи до оксидације тиолских група, и на то је углавном ограничена његова токсичност. Прилично је стабилно једињење, са дугим полуживотом и може доспети до било ког места у ћелији али због учествовања у производњи веома токсичног HO^{\cdot} сматра се посредником токсичности у оксидативном стресу.

1.4.1.3. Хидроксил радикал

Хидроксил радикал (HO^{\cdot}) је врло токсична врста ROS. Ступа у реакцију са готово свим органским биомолекулама (протеини, липиди, ДНК) (*Halliwell B et al., 2021*). Хидрокси радикали учествују у оксидативном оштећењу молекула ДНК доводећи до

настанка и развоја различитих болести међу којима су атеросклероза, неуродегенеративне болести и канцер. Због оштећења ћелијске мембране пероксидацијом липида, у реакцији са полинезасићеним масним киселинама испољавају ирверзибилно оштећење ћелијске мембране и изузетно цитотоксично дејство (*Mylonas C et al., 1999*).

Липидна пероксидација је ланчана реакција, оксидација само неколико липидних молекула доводи до оштећења ткива. Оштећење липидних молекула одређује се мерењем количине реактивне врсте тиобарбитуратне киселине (TBARS), малонилалдехида (MDS), хидроксипреналина, изопростана и других продуката липидне пероксидације. За разлику од засићених масних киселина полинезасићене масне киселине су осетљивије на деловање ROS због присуства двоструких веза. Чињеница је да иако процес пероксидације могу покренути и други радикали, најчешће је узрокује хидроксилни радикал (OH^\bullet). У процесу пероксидације из метиленске групе под утицајем ROS издваја се атом водоника из метиленске групе. Интензивна липидна пероксидација у биолошким мембранама узрокује губитак флуидности, повећање пермеабилности за водоникове и друге јоне што доводи до руптуре ћелије. Повећана липидна пероксидација повећава ризик од атеросклерозе и других патолошких стања (*Girotti AW, 1985*).

1.4.2. Реактивне врсте азота (RNS)

Представник слободнорадикалских врста азота (RNS) је азот моноксид радикал (NO^\bullet). Настаје оксидацијом L-аргинина посредством ензима азот-моноксид синтазе-NOS. Његовом активношћу настају друге RNS, као што су пероксинитрит (ONOO^-) азотдиоксидни радикал NO_2^\bullet , нитрозијум катјон (NO^+) и нитроксил ањон (NO^-) (**Табела 2**) (*Dröge W, 2002*). Садржи један неспарен електрон у орбити. Синтетише се у ендотелним ћелијама, макрофагима, неутрофилима, надбубрежној жлезди као и у нервним ћелијама. Као сигнални молекули учествују у бројним физиолошким процесима, регулацији крвног притиска, неуротрансмисији, релаксацији глатко мишићног ткива, регулацији апоптозе, ангиогенезе, има значајно место у физиологији срца. У исхемијском ткиву миокарда азот моноксид у мањим количинама делује протективно јер вазодилататорним дејством повећава прокрвљеност миокарда, али прекомерна синтеза смањује контрактилну способност миокарда и доводи до последичног оштећења миокарда. (*Zweier JL et al., 2006*). Полу-живот у ћелијама му је веома кратак, тек неколико секунди. Главно циљно место оксидације NO^\bullet је двослој липидне мембране пошто су NO^\bullet и O_2 липофилни молекули. Врло брзо ступа у реакцију са супероксид ањон радикалом, при том настаје токсичан пероксинитритни радикал (ONOO^\bullet) који се при ниској рН трансформише у пероксинитритну киселину (ONOOH), а она се разлаже до OH^\bullet радикал, па је и његова токсичност повезана са његовом способношћу брзе продукције OH^\bullet радикала који је врло токсично једињење јер доводи до: оксидације тиолних група, нитрозиловања тирозина и фенил-аланина, оксидације липида, цепања ланца ДНК, нитровања и дезаминације нуклеинских база које имају за последицу оштећења молекула и ткива (*Dröge W, 2002*).

Табела 2. Приказ слободнорадикалских и нерадикалских облика реактивних кисеоничних и азотних врста

| СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ | НЕРАДИКАЛСКИ ОБЛИЦИ |
|---|--|
| Реактивне кисеоничне врсте (ROS) | |
| супероксид ањон, $O_2^{\bullet-}$ | хипобромна киселина HOBr |
| хидрокси радикал OH \bullet | хипохлорна киселина HOCl |
| хидропероксидни радикал, HO $_2\bullet$ | озон O $_3$ |
| перокси радикал, RO $_2\bullet$ | синглетни кисеоник 1O_2 |
| алкокси радикал, RO \bullet | органски пероксид ROOH |
| карбонатни радикал CO $_3\bullet$ | пероксинитрит ONOO |
| угљендиоксидни радикал, CO $_2\bullet$ | пероксинитритна киселина ONOOH |
| водоник пероксид H $_2O_2$ | |
| Реактивне азотне врсте (RNS) | |
| азотмоноксидни радикал NO \bullet | азотаста киселина HNO $_2$ |
| азотдиоксидни радикал NO $_2$ | нитрозо катјон NO $^+$ |
| пероксинитрит ONOO \bullet | нитроксидни ањон NO $^-$ |
| | динитроген тетроксид N $_2O_4$ |
| | динитроген триоксид N $_2O_3$ |
| | пероксинитрит ONOO |
| | пероксинитритна киселина ONOOH |
| | нитронијум (нитрил) катјон NO $_2^+$ |
| | алкилпероксинитрити ROONO |
| | нитрил (нитринијум) хлорид NO $_2Cl^+$ |

1.5. Улога оксидационог стреса у артеријској хипертензији

Као један од главних чинилаца у патогенези артеријске хипертензије и последичне ендотелне дисфункције, повећане васкуларне контрактилности и последичног ремоделовањем целог васкуларног корита управо се наводи оксидациони стрес, оксидо-антиоксидни дисбаланс, прекомерна производња ROS и поремећај производње антиоксидативних компоненти (*Krzemińska et al., 2022*). Оксидациони стрес се може мерити коришћењем одговарајућих биомаркера, који су важни у процени како патолошких стања, тако и позитивних ефеката антиоксиданата на организам (*Marrocco et al., 2017*). Појам оксидациони стрес је увео *Helmut Sies (Forman et al., 2021)* и представља неравнотежу између оксиданаса и антиоксиданаса, у корист првог, услед чега долази до поремећаја хомеостазе и последичног молекуларног оштећења. Оксидативни стрес је последица неадекватне продукције ROS или неефикасног антиоксидативног система (*Sarniak et al., 2016; Ray et al., 2012; Dikalov et al., 2013*). Тело није у могућности да их многобројним антиоксидативним механизмима надмаши и настали оксидативни стрес је главни покретач различитих патолошких стања. Повећан оксидативни стрес повезан је са повећаном производњом прооксиданаса супероксид ањона ($O_2^{\bullet-}$) и водоник пероксида (H_2O_2) који директно оксидују макромолекуле, међу којима су и мембрански липиди, ензими и нуклеинске киселине што доводи до оштећења ћелија са једне стране, а смањеном синтезом NO, јединог молекула који произведен у мањим количинама утиче на реакцију супероксид дисмутаза (SOD) са свим произведеним супероксидним ањонима ($O_2^{\bullet-}$) и осталих антиоксиданаса. Управо због тога истражује се утицај различитих фармаколошких агенаса који се примењују у терапији АХ и њихов утицај на равнотежу између прооксиданаса и антиоксиданаса. ROS имају значајну улогу у

ендотелној дисфункцији, инфламацији, фибрози, васкуларном ремоделовању комора, хипертрофији миокарда. Терапијске могућности антиоксидативне заштите заснивају се на спречавању производње оксиданаса, инхибирању њихове активности у сигналним путевима који узрокују запаљенске процесе и ћелијску смрт као и повећању антооксидационих система заштите.

Треба имати у виду да је оксидативни стрес двостран (*Sies et al., 2017*). Прекомерна производња оксиданаса доводи до оштећења макромолекула, али њихова физиолошка продукција је важна за физиолошке процесе посредством учествовања у сигналним редокс процесима у организму. У многобројним патолошким стањима оксидативни стрес заузима примарно место у патофизиологији болести и антиоксидативна терапија не успева да инхибира напредовање болести. Таква су стања пнеумонитиси као последица зрачне код карцинома плућа и једњака, затим атеросклероза, где је оксидативни стрес одговоран за претварање LDL холестерола у оксидисани LDL кључан за развој атеросклеротског плака (*Yang et al., 2017*). У неким патолошким стањима оксидативни стрес даје секундарни допринос прогресији болести где оксидативни стрес настаје као последица обољењем изпровоциране производње оксиданаса. Такво стање је исхемијско-реперфузиона повреда, хронична опструктивна болест плућа (ХОБП), дијабетес типа 2, Алцхајмерова болест, хипертензија као и разна малигна обољења.

Ендотелна дисфункција, пероксидација липида, инфламација и повећана контрактилност и васкуларно ремоделовање су последице оксидационог стреса и фактори који доприносе развоју АХ (*Dikalov et al., 2013; Ward et al., 2004; Touyz et al., 2004*). Услед присуства ових фактора, велике флексибилне артерије постају круте, губе флексибилност и имају друге промене у механичким својствима која доводе до смањења усклађености, што резултује повишеним крвним притиском. Штавише, активација ренин ангиотензинског система (РАС) продубљује ремоделовање кардиоваскуларних ткива, промовишући запаљење. Све ове физиолошке промене се јављају са старењем, али АХ убрзава ове процесе (*Donato et al., 2018; Touyz et al., 2020*).

За људе са АХ је карактеристично да имају значајно виши ниво супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$) и хидроген пероксида (H_2O_2) него здрави људи. Даље, сваки ROS укључен у ћелијску сигнализацију има различита хемијска својства, што доводи до стимулације одвојених сигналних путева. $O_2^{\cdot-}$ има кратко време полураспада, док H_2O_2 има дуже време полураспада и способност дифузије на веће удаљености. Штавише, $O_2^{\cdot-}$ доприноси инактивацији вазодилатације и последично доводи до развоја ендотелне дисфункције и вазоконстрикције, док H_2O_2 има вазодилатацијски ефекат, укључујући и ефекат на коронарне судове (*Brunelli et al., 2017; Paravicini et al., 2006*).

Главни произвођачи слободних радикала у крвним судовима су активирани прооксидативни ензими, као што су NADPH оксидаза, ксантин оксидаза и азот оксид синтазе, међутим, све више доказа нагиње ка растућој улози митохондријалних и ензима ендоплазматског ретикулума (*Dikalov et al., 2013; Touyz et al., 2020*). Њихова активност је регулисана многим факторима, укључујући хуморалне факторе (нпр. цитокини) и физичких фактора (нпр. истезање). Поред тога, природа крвотока кроз крвне судове заслужује посебну пажњу (*Touyz et al., 2004*): ламинарни ток има заштитни ефекат на судове стимулишући антиоксидантну одбрану и производњу NO, али са друге стране изазива оксидативно оштећење, што доводи до васкуларног оштећења и инфламације (*Paravicini et al., 2006*). Иако васкуларне ендотелне ћелије садрже мање количине митохондрија, показало се да је управо оксидативни стрес митохондријалног порекла повезан са ендотелијалном дисфункцијом (*Park et al., 2018*). Митохондрије могу утицати на васкуларну функцију кроз многе механизме, укључујући повећану производњу ROS у системској и периферној циркулацији и недостатак алдехид

дехидрогеназе и митохондријалне редокс сигналне путеве. Митохондрије не само да производе велике количине ROS у облику O_2^- и H_2O_2 , него су и веома осетљиве на оксидациони стрес, који доводи до њиховог оштећења и промовише повећану производњу ROS. Развој повишеног крвног притиска зависи од повећане производње ROS, међутим, недостатак антиоксиданаса, укључујући SOD и глутатион пероксидазу, такође игра важну улогу у патогенези АХ (*Dikalov et al., 2013*). Студија попречног пресека коју су спровели *Brunelli* и његови сарадници је евалуирала корелацију између оксидативног дисбаланса и утврђених кардиоваскуларних фактора ризика, укључујући повишен крвни притисак, у здравој популацији. Фотометријским мерењем одређивани су реактивни метаболити кисеоника и антиоксидативни потенцијал. У току у студији, анализиране су вредности крвног притиска и повезане са ефикасношћу антиоксидативне баријере и оксидациони статус. Показало се да су са повећањем вредности крвног притиска, вредности реактивних метаболита кисеоника остале константне, међутим, примећено је значајно смањење антиоксидативног капацитета на и изнад 150 mmHg (*Brunelli et al., 2017*). Такође се показало да имуни систем игра кључну улогу у патогенези АХ, јер се показало да активира и доводи до миграције инфламаторних ћелија које се акумулирају у ткиву, подстичу инфламацију и иницирају и продубљују ремоделовање кардиоваскуларног ткива (*Touyz et al., 2004*). Истењање ендотелних и васкуларних глатких мишићних ћелија изазвано повећањем интраваскуларног притиска стимулише NADPH оксидазу, што доводи до производње ROS, активирање ренин-ангиотензин-система (РАС) додатно појачава овај ефекат. Ангиотензин II (АТ-II) је проинфламаторни, вазоконстрикторски пептид РАС-а, који промовише оксидативни стрес у периферној циркулацији (*Brunelli et al., 2017*). У патофизиологији артеријске хипертензије, АТ-II се везује за ангиотензин II типа 1 рецепторе (АТ1), што доводи до коњугације G-протеина и индукује сигнализацију преко секундарних гласника, укључујући диацилглицерол, који, као снажан ендогени активатор протеин киназе C, доприноси активацији фагоцитне NADPH оксидазе (*Forrester et al., 2018*). Као последица тога долази до оксидативног оштећења ћелија и накнадне ендотелне дисфункције, што доводи до развоја хипертензије (*Brunelli et al., 2017*). Штавише, ROS-посредовани оксидациони стрес доприноси повећању сигнализације ренин-ангиотензин-алдостерон система (РААС), фаворизујући развој кардиоваскуларних болести. Дакле, може се видети да се путеви оксидативног стреса и инфламације међусобно прожимају, активирајући и интензивирајући једни друге (*Daiber et al., 2019*). Као последица тога, транскрипциони проинфламаторни фактори, MAP киназе и профиброгени механизми се активирају. Развој васкуларне инфламације, је углавном индукован експресијом проинфламаторних гена модулираних транскрипционим факторима, који доприносе артеријској фибрози и ремоделовању (*Paravicini et al., 2006*).

1.6. Ишемијско/реперфузиона повреда миокарда

Ишемија срчаног мишића углавном настаје услед потпуне или делимичне опструкције крвних судова који га исхрађују. Поред тога што ишемија за последицу има оштећење миокарда, парадокс је да после поновног успостављања протока крви настају бројни стресогени чиниоци који накнадно оштећују миокард доводећи до тзв. ишемијско/реперфузионе повреде (И/Р). Ишемија је врло честа последица различитих кардиоваскуларних болести, која за последицу има дисбаланс у рН вредности, снижење дотока кисеоника у ишемично ткиво и поремећај концентрације K^+ и Ca^{2+} , што све скупа узрокује срчану дисфункцију, поремећај ритма, инфаркт миокарда и морталитета (*Heusch et al., 2014*). Тако имамо да се оштећење функције миокарда настало услед

исхемије може опоравити током реперфузије поновним успостављањем протока, али са друге стране имамо иреверзибилно оштећење услед активације сложеног инфламацијског одговора у реперфузионом периоду које се назива реперфузиона повреда (*Andreadou et al., 2015; Lee et al., 2012*).

Узрочници који доприносе И/Р повреди су јако сложени и осим раније наведених, укључују микроваскуларну дисфункцију, синтезу ROS и индукцију апоптозе и некрозе. Зато је јако да се расветле који то све механизми доводе до И/Р озледе миокарда, како би се пронашли начини за кардиопротективно дејство и открила нова или препознати која већ постојећа једињења могу представљати прекондиционирајући агенс, како би побољшали перформансе миокарда и тиме смањила могућност за развој нових кардиоваскуларних догађаја (*Hausenloy et al., 2011*).

У овој студији пратили смо утицај различитих антихипертензивних лекова из групе диуретика и АЦЕ-инхибитора, који представљају неизоставни део терапије хипертензивних пацијената на исхемијско-реперфузиону повреду срца и утицај различитих диуретика на пост-инфарктно ремоделовање.

II

ЦИЉ

ИСТРАЖИВАЊА

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Употребом модела глобалне исхемије на изолованом срцу спонтанохипертензивног пацова:

1. Утврдити ефекте хроничне примене различитих антихипертензивних лекова и њихових комбинација на исхемијско/реперфузиони поремећај функције срца пацова са хипертензијом.
2. Утврдити утицај хроничне администрације различитих антихипертензивних лекова и њихових комбинација на крвни притисак хипертензивних пацова.
3. Испитати утицај хроничне администрације различитих антихипертензивних лекова и њихових комбинација на оксидациони статус изолованог срца пацова са хипертензијом.
4. Утврдити ефекте хроничне примене различитих антихипертензивних лекова и њихових комбинација на системски оксидациони статус пацова са хипертензијом.
5. Испитати утицај хроничне администрације различитих антихипертензивних лекова и њихових комбинација на хистопатолошке промене изолованог срца и бубрега пацова са хипертензијом.

III

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Етичко одобрење

Спровођење експеримената на пацовима је претходно одобрила Етичка комисија за заштиту добробити огулних животиња Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (број одобрења 01-10667/1). Све експерименталне процедуре су у складу са Директивом Европске уније о добробити лабораторијских животиња (2010/63EU), Директивом Савета Европских заједница (86/609/EEZ) и начелима добре лабораторијске праксе.

3.1. Експерименталне животиње

Студија је спроведена на 80 пацова (*Wistar Kyoto* сој, 250 ± 30 g, 8 недеља стари) мушког пола. Експерименталне животиње су боравиле у условима тако подешеним да су се светлост и тама смењивали на дванаест сати, а да је температура одржавана на око $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и да су им при том вода и храна биле *ad libitum*. Животиње су биле сврстане у 8 (осам) група (по 10 животиња у свакој групи) у зависности којим антихипертензивним агенсом су третиране:

1. **Хидрохлортиазид** - *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови који су третирани са 10 mg/kg хидрохлортиазида *per os* током четири недеље (*Wang et al., 2013*).
2. **Спинолактон** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови који су третирани са 10 mg/kg спинолактона *per os* током четири недеље (*Milliez et al., 2012*).
3. **Индапамид** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови који су третирани са 10 mg/kg индапамида *per os* током четири недеље (*Chillon et al., 2004*).
4. **Зофеноприл** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови су третирани са 10 mg/kg спинолактона *per os* током четири недеље (*Carnicelli et al., 2011*).
5. **ЗХС** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови који су третирани комбинацијом зофеноприл + хидрохлортиазид + спинолактон *per os* током четири недеље.
6. **ЗИС** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови који су третирани комбинацијом зофеноприл + индапамид + спинолактон *per os* током четири недеље.
7. **Контрола** – *Wistar Kyoto* спонтанохипертензивни пацови коју нису третирани.
8. **НТ** – *Wistar Kyoto* нормотензивни пацови коју нису третирани.

3.2. Мерење крвног притиска

Хипертензија је потврђена индиректним мерењем крвног притиска из репне артерије (*tail cuff method*). Само животиње са вредностима дијастолног/систоличног притиска $> 90/150$ mmHg су укључене у студију. Репном плетизмографијом мерени су притисци и срчана фреквенција (*IITC Life Science, Inc., USA*) (Слика 1). Пре читавања крвног притиска, пацови су постављани у рестрејнер на 5-10 минута како би се адаптирали на нове услове (тесно, тамно и топло – 36°C). За обраду резултата мерења је узета просечна вредност 3 стабилна измерена крвна притиска, а дијастолни притисак смо израчунавали односом средње вредности три узастопна мерења систоличног притиска са средњим артеријским притиском код једног пацова у једном дану.



Слика 1. Апарат за мерење крвног притиска из репне артерије

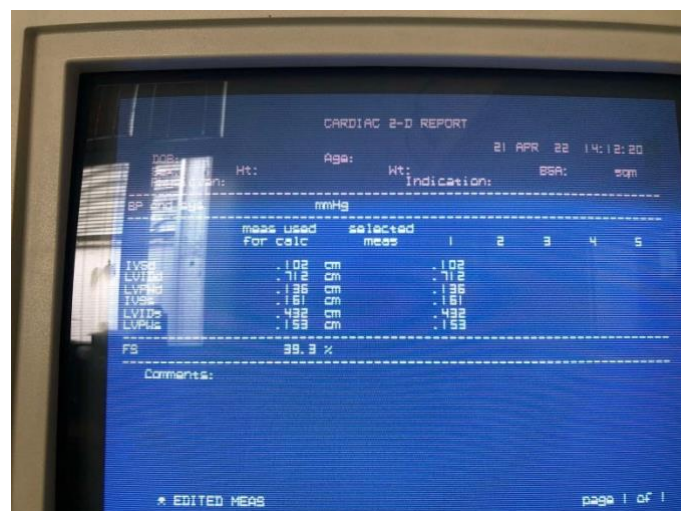
3.3. Ехокардиографија

Ехокардиографија односно ултразвук срца пацова као неинвазивна дијагностичка метода се радила употребом специјализованог ултразвучног апарата за мале лабораторијске животиње (*HP/Philips SONOS 5500, Imaging System, Hewlet Packard, 3000 Minuteman Road, Andover, Massachusetts 01810*). Након премедикације, животињама је индукована општа анестезија након чега су добијене информације о изгледу и функцији срчаних структура и установљене су патоанатомске промене и функционални поремећаји срца пре почетка и на крају експерименталног периода (Слика 2).

Мерене су следеће структуре: дебљина зида интервентрикулрног септума на крају дијастоле (IVSd), унутрашња димензија леве коморе на крају дијастоле (LVIDd), дебљина задњег зида леве коморе на крају дијастоле (LVPWd), и дебљина зида интервентруларног септума на крају систоле (IVSs), унутрашња димензија леве коморе на крају систоле (LVIDs), дебљина задњег зида леве коморе на крају систоле (LVPWs), проценат фракционог скраћења (FS) и проценат ејекционе фракције (EF) (Слика 3).



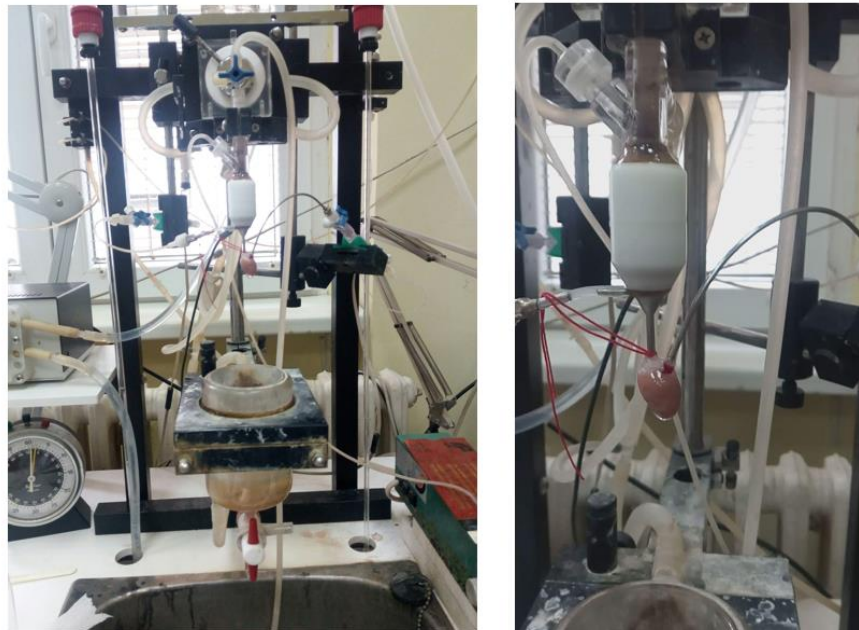
Слика 2. Ултразвучни преглед срца анестезираног пацова



Слика 3. Приказ снимања ехокардиографских параметара

3.4. Модел глобалне исхемије и испитивање функције изолованог срца пацова

Након четворонедељне администрације поменутих агенсима животиње су жртвоване, а срца изолована, препарисана и постављена на *Langendorff*-ов апарат (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) који путем ретроградне перфузије омогућава испитивање функције изолованог срца пацова (Слика 4). Перфузија срца је рађена при константном коронарном перфузином притиску од 70 cmH₂O да би после периода стабилизације (око 30 минута) и стабилног срчаног рада уследило изазивање глобалне исхемије заустављањем перфузије односно протока. На овај начин је почео период исхемије изолованог срца од 20 минута после које је перфузија срца поново успостављена (период реперфузије) у трајању од 30 минута. За исхрану срца током *ex vivo* експеримента користишћен је перфузиони раствор (*Krebs-Hensenleit*-ов), који је сличан екстрацелуларној течности и састоји од: NaCl (118 mmol/l), KCl (4.7 mmol/l), MgSO₄ (1.66 mmol/l), NaHCO₃ (24.88 mmol/l), KH₂PO₄ (1.18 mmol/l), глукозе, (5.55 mmol/l) и CaCl₂ (2.52 mmol/l). Овај перфузиони раствор је гасиран мешом кисеоника и угљен-диоксида (95% O₂ и 5% CO₂) и загрејан на 37 °C и такав рставор има рН 7,4.



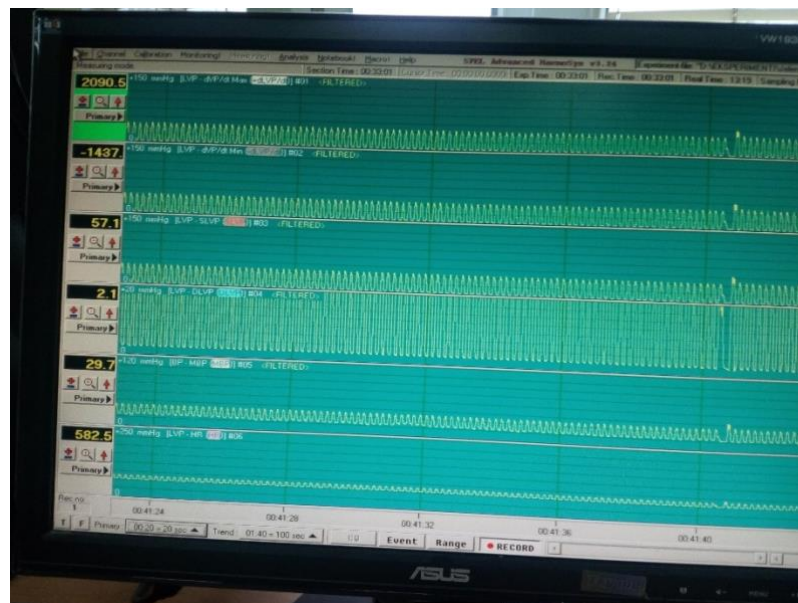
Слика 4. *Langendorff* апарат

3.5. Кардиодинамски параметри

Након што је успостављен стабилан рад срца, уклањена је лева преткомора и прокинута митрална валвула, што је омогућило убацивање сензора у леву комору како би било могуће директно и континуирано пратити параметаре функције леве коморе:

- I - максимална стопа промене притиска леве коморе (dp/dt max);
- II - минимална стопа промене притиска леве коморе (dp/dt min);
- III - систолни притисак у левој комори (SLVP);
- IV - дијастолни притисак у левој комори (DLVP);
- V - срчана фреквенца (HR) (Слика 5).

Вредност коронарног протока одређиван је флоуметријски и изражен у милилитрима по једном минутоу сакпљеног перфузионог раствора који излази из коронарних крвних судова и срца. Коронарни венски ефлуент је прикупљан у тачки стабилизације (на крају овог периода), у првој тачки реперфузије као и на сваких пет минута током периода реперфузије. У овим интервалима су бележени и сви горе наведени кардиодинамски параметри.



Слика 5. Приказ снимања кардиодинамских параметара

3.6. Биохемијске анализе биомаркера срчаног и системског оксидационог статуса

При жртвовању, животињама је узоркована крв у епрувете које садрже цитрат и центрифугирањем (10 min на 5000 rpm, 4 °C) је извојена плазма, а исталожени еритроцити су ресуспендовани и три пута испрани физиолошким раствором, а потом смрзнути на -20 °C до анализе.

Маркери оксидационог стреса из плазме и коронарног венског ефлуента:

1. индекс липидне пероксидације - одређиван као TBARS, (*Ohkawa et al., 1979*).
2. азот моноксид у облику нитрита (NO_2^-), (*Green et al., 1982*).
3. супероксид анјон радикал (O_2^-), (*Auclair et al., 1985*).
4. водоник пероксид (H_2O_2), (*Pick et al., 1980*).

Из лизата еритроцита су одређивани ензимски и неензимски маркери антиоксидативне заштите:

1. супероксид димутаза (SOD) (*Aebi et al., 1984*),
2. каталаза (CAT) (*D'Agnillo et al., 1998*),
3. редуковани глутатион (GSH) (*Beutler et al., 1963*).

су одрађени у Центру за предклиничка и функционална истраживања, Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу. Мерење је вршено на спектрофотометру (*UV-1800 Shimadzu UV spectrophotometer, Japan*), (Слика 6). За одређивање маркера оксидационог стреса, употребљивани су комерцијални реагенси *pro analysis* квалитета произвђача *Sigma-Aldrich (Germany)*.



Слика 6. Спектрофотометар

3.6.1. Одређивање супероксид анјон радикала

Ниво супероксид анјон радикала ($O_2^{\cdot-}$) је одређиван на основу реакција нитро тетразолијум плавог (у ТРИС пуферу) и узорка плазме/ефлуента, и мерењем на $\lambda=530$ nm. Као слепа проба коришћена је dH_2O (Auclair и Voisin, 1985).

3.6.2. Одређивање водоник пероксида

Процена вредности водоник пероксида (H_2O_2) је спроведена реакцијом оксидацијњ фенол црвеног са H_2O_2 , која је катализована пероксидазом (енгл. *Horser Radish Peroxidase* - HRPO). Узорак плазме/ефлуента од 200 μ l је исталожен са 0,8 ml фенол црвеног, у који је додато 10 μ l (1:20) HRPO. *Krebs-Henseleit*-ов раствора је коришћен за слепу пробу. Концентрација H_2O_2 је одређивана на таласној дужини од $\lambda=610$ nm (Pick и Keisari, 1980).

3.6.3. Одређивање индекса липидне пероксидације

Индекс липидне пероксидације одређиван као реактивне супстанце тиобарбитурне киселине - TBARS (енгл. *Thiobarbituric Acid Reaactive Substances*) у плазми/ефлуенту је процењен коришћењем 1% тиобарбитурне киселине у 0,05 NaOH, инкубацијом са 0,8 ml узорка плазме/ефлуента на 100 °C, 15 минута, а мерење је спроведено на $\lambda=530$ nm (Ohkawa et al., 1979).

3.6.4. Одређивање нитрита

Концентрација нитрита (NO_2^-) у плазми/ефлуенту осликава ниво NO. Нитрити су одређивани по *Green* методи (Green et al., 1982). Узорак плазме или ефлуента (500 μ l) је исталожен додатком 200 μ l 30% сулфосалицилне киселине, потом је вортексиран и центрифугиран на 3000 g. Издвојени супернатант помешан са еквивалентном запремином Грисовог реагенса, инкубиран 10 минута у мраку и читан на $\lambda=550$ nm.

3.6.5. Одређивање активности каталазе

Активност каталазе (CAT) је процењена према *Aebi* протоколу (Aebi, 1984). Узорак разблажених еритроцита (разблажен dH_2O , 1:7) запремине 100 μ l се састави са једнаком количином етанола, 50 μ l пуфер за CAT и 1000 μ l 10 mM H_2O_2 . Активност каталазе одређивана је мерењем на спектрофотометру на $\lambda=230$ nm.

3.6.6. Одређивање активности супероксид дисмутазе

Активност супероксид дисмутазе (SOD) одређивали смо *Beutler* методом (Beutler, 1984). У епрувети је помешано 100 μ l еритроцита и 1000 μ l карбонтног пуфера, узорк вортексиран и додато 100 μ l адреналина. Мерење је спроведено у дупликату на $\lambda= 470$ nm.

3.6.7. Одређивање редукованог глутатиона

Редуковани глутатион (GSH) одређиван је оксидацијом GSH са 5,5-дитио-бис-6,2-нитробензове киселине по *Beutler* методи (Beutler, 1975). Мерење спроведено на $\lambda=412$ nm.

3.7. Патохистолошка анализа срца

За патохистолошку анализу се користило срце након завршеног експеримента на *Langendorff* апарату и изоловани бубрег. Изоловани узорци срчаног ткива леве коморе и бубрег су фиксирани у формалину и уграђени у парафинке калупе, а потом сечени и бојени *Heamatoxylin-Eosin* (Х/Е).

За морфометријску анализу коришћено је смо стандардно Х/Е бојење. Након спроведене депарафинизације у ксилолу и рехидратације у опадајућим концентрацијама алкохола (100%, 96% и 70%), пресеци су бојени Мајеровим хематоксилином 5 минута, након чега су испрани у води, а потом бојени еозином 3 минута. Након тога су подрвргнути дехидратацији у растућим концентрацијама алкохола (96% и 100%), просветљењу у ксилолу и монтирању покровних стакала са DPX (*Sigma-Aldrich, Co., USA*). Добијени пресеци су усликани на микроскопу *Olympus BX51* на увећању 400x. Сlike су анализирне у програму за анализу слика *Axiovision* (*Zeiss, USA*). Калибрисни софтвер је потом одмерио површине слика које одговарају специфичном морфолошком ентитету (*Sretenovic J et al., 2018*).

3.8. Статистичка обрада података

Статистичка обрада податка урађена је у програму IBM SPSS Statistic v.23. Дескриптивна статистичка анализа урађена је коришћењем просечна вредности и стандардно одступања, док су подаци графички приказани коришћењем линијског графика за кардиодинамске параметре и стубичастог графика за параметре оксидационог стреса. Провера нормалности расподеле података урађена је коришћењем Шапиро-Вилк теста нормалности. Анализа разлике вредности кардиодинамских параметара као и параметара оксидационог стреса у односу групе пацова које су користиле различите врсте лекова и у односу на контролне групе коришћен је једнофакторска АНОВА тест за различите групе уколико су подаци пратили нормалну расподелу, за накнадне тестове Студентов т тест за независне узорке, а статистички значаји резултати су графички приказани коришћењем линијског графика. Уколико подаци нису пратили нормалну расподелу, за анализу је коришћен Крускал-Волис тест, а за накнадне тестове Ман-Витнијев тест, док су статистички значаји резултати графички приказани коришћењем правоугаоних графика. Резултат је сматран статистички значајан ако је значајност (р вредност) била мања или једнака од 0,05.

IV

РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Крвни притисак спонтаног хипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима

У студији су мерена три хемодинамска параметара (систоли притисак, дијастолни притисак и срчана фреквенца) код нормотензивних пацова и спонтаног хипертензивних пацова који нису третиран и спонтаног хипертензивних пацова третираних антихипертензивним лековима појединачно или у комбинацији у трајању од 4 недеље (Табела 3).

Табела 3. Вредности систолног и дијастолног крвног притисак и срчане фреквенце пацова.

| | Хидрохлортиазид | | Спиринолактон | |
|------------|-----------------|------------------------------|----------------|------------------------------|
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| SBP | 171,71 ± 7,99 | 164,71 ± 13,03 | 174,00 ± 7,75 | 167,01 ± 10,17 |
| DBP | 88,14 ± 4,71 | 84,00 ± 6,35 | 90,21 ± 4,16 | 88,29 ± 8,48 |
| HR | 407,71 ± 12,84 | 408,71 ± 16,94 | 405,57 ± 13,39 | 400,43 ± 16,62 |
| | Индапамид | | Зофеноприл | |
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| SBP | 174,57 ± 9,49 | 163,86 ± 11,63 | 172,35 ± 4,43 | 166,98 ± 3,71 |
| DBP | 90,4 ± 8,96 | 84,86 ± 8,91 | 93,79 ± 7,41 | 91,19 ± 5,19 |
| HR | 393,86 ± 13,86 | 413,43 ± 18,48 | 377,18 ± 16,21 | 383,12 ± 18,45 |
| | ЗХС | | ЗИС | |
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| SBP | 179,75 ± 6,78 | 147,25 ± 4,12* [#] | 178,81 ± 4,33 | 143,98 ± 3,71* [#] |
| DBP | 95,97 ± 8,47 | 87,79 ± 4,94* [#] | 92,63 ± 6,47 | 80,14 ± 5,41* [#] |
| HR | 397,95 ± 15,23 | 362,14 ± 15,55* [#] | 389,18 ± 11,71 | 341,14 ± 14,75* [#] |
| | Контрола | | НТ | |
| | Пре третмана | Пре третмана | Пре третмана | После третмана |
| SBP | 176,43 ± 9,68 | 172,35 ± 4,43 | 122,25 ± 6,11 | 119,45 ± 7,12 |
| DBP | 92,43 ± 7,98 | 96,29 ± 9,81 | 77,87 ± 8,47 | 79,07 ± 6,15 |
| HR | 404,29 ± 18,78 | 371,18 ± 28,95 | 331,18 ± 28,95 | 340,18 ± 16,71 |

SPB – систолни крвни притисак (mmHg), DBP – дијастолни крвни притисак (mmHg), HR – срчана фреквенца (број откуцаја срца у минути). Вредности су приказане као средња вредност ± SD. * $p < 0,05$ за хидрохлортиазид, спиринолактон, индапамид, зофеноприл, ЗИС и ЗХС групу у односу на контролну групу, # $p < 0,05$, за разлику пре третмана у односу на после третмана унутар групе.

4.2. Ехокардиографија спонтано хипертензивних пацова третираних антихипертензивним лековима

Хидрохлортиазид и спиронолактон су довели до снижења IVSd, LVIDd, PWd, IVSs, PWs, док је само спиронолактон додатно значајно снизио и LVIDs; индапамид је снизио IVSd, LVIDd, PWd, LVIDs, PWs и додатно повећао EF; док је зофеноприл индуковао снижење IVSd, LVIDd, PWd, IVSs, PWs, FS и повећање EF у односу на хипертензивну контролу мерено *in vivo*, ехокардиографијом (Табела 4а).

Табела 4а. Параметри ехокардиографије мерени пре и после третмана антихипертензивним агенсима.

| | НТ | | Контрола | |
|-------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| IVSd (cm) | 0,15 ± 0,01 | 0,18 ± 0,01 | 0,19 ± 0,01 | 0,20 ± 0,01 |
| LVIDd (cm) | 0,75 ± 0,03 | 0,75 ± 0,02 | 0,71 ± 0,02 | 0,72 ± 0,03 |
| PWd (cm) | 0,24 ± 0,02 | 0,23 ± 0,02 | 0,26 ± 0,01 | 0,25 ± 0,01 |
| IVSs (cm) | 0,19 ± 0,01 | 0,20 ± 0,01 | 0,21 ± 0,01 | 0,20 ± 0,02 |
| LVIDs (cm) | 0,48 ± 0,02 | 0,49 ± 0,03 | 0,43 ± 0,02 | 0,43 ± 0,01 |
| PWs (cm) | 0,16 ± 0,01 | 0,15 ± 0,01 | 0,29 ± 0,01 | 0,30 ± 0,01 |
| FS (%) | 35,21 ± 3,11 | 36,13 ± 4,02 | 39,15 ± 3,02 | 39,00 ± 2,34 |
| EF (%) | 59,04 ± 4,35 | 57,31 ± 3,79 | 61,93 ± 3,21 | 62,88 ± 4,45 |

| | Хидрохлортиазид | | Спиронолактон | |
|-------------------|-----------------|----------------|---------------|----------------|
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| IVSd (cm) | 0,20 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01*# | 0,19 ± 0,02 | 0,13 ± 0,01*# |
| LVIDd (cm) | 0,71 ± 0,02 | 0,62 ± 0,04*# | 0,70 ± 0,01 | 0,52 ± 0,03*# |
| PWd (cm) | 0,25 ± 0,02 | 0,14 ± 0,01*# | 0,26 ± 0,03 | 0,14 ± 0,01*# |
| IVSs (cm) | 0,21 ± 0,01 | 0,17 ± 0,01*# | 0,21 ± 0,01 | 0,16 ± 0,01*# |
| LVIDs (cm) | 0,42 ± 0,03 | 0,37 ± 0,05 | 0,43 ± 0,03 | 0,32 ± 0,05*# |
| PWs (cm) | 0,30 ± 0,01 | 0,17 ± 0,02*# | 0,30 ± 0,02 | 0,15 ± 0,01*# |
| FS (%) | 42,53 ± 2,57 | 39,73 ± 4,57 | 41,03 ± 2,43 | 38,42 ± 6,45 |
| EF (%) | 62,54 ± 3,89 | 63,46 ± 5,32 | 64,76 ± 4,21 | 61,84 ± 7,63 |

Дебљина зида интервентрикуларног септума на крају дијастола (IVSd), унутрашња димензија леве коморе на крају дијастоле (LVIDd), дебљина задњег зида леве коморе на крају дијастола (LVPWd), и дебљина зида интервентрикуларног септума на крају систоле (IVSs), унутрашња димензија леве коморе на крају систоле (LVIDs), дебљина задњег зида леве коморе на крају систоле (LVPWs), проценат фракционог скраћења (FS) и проценат ејекционе фракције (EF). Вредности су приказане као средња вредност ± SD. * $p < 0,05$ хидрохлортиазид, спиронолактон, индапамид, зофеноприл, ЗИС и ЗХС групу у односу на контролну групу, # $p < 0,05$, за разлику пре третмана у односу на после третмана унутар групе.

Третман комбинацијом антихипертензивних лекова (зофеноприл, хидрохлортиазид и спиронолактон) је постигао још израженије снижење, него када се примене појединачно, следећих параметара IVSd, LVIDd, PWd, LVIDs, PWs и повећање EF, док је комбинација зофеноприла, индапамида и спиронолактона додатно снизила и IVSs (Табела 46).

Табела 46. Параметри ехокардиографије мерени пре и после третмана антихипертензивним агенсима.

| | Индапамид | | Зофеноприл | |
|-------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| IVSd (cm) | 0,20 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01*# | 0,18 ± 0,01 | 0,13 ± 0,01*# |
| LVIDd (cm) | 0,71 ± 0,02 | 0,51 ± 0,02*# | 0,69 ± 0,02 | 0,65 ± 0,09*# |
| PWd (cm) | 0,25 ± 0,01 | 0,17 ± 0,02*# | 0,23 ± 0,01 | 0,14 ± 0,00*# |
| IVSs (cm) | 0,21 ± 0,02 | 0,21 ± 0,03 | 0,20 ± 0,02 | 0,16 ± 0,01*# |
| LVIDs (cm) | 0,42 ± 0,01 | 0,28 ± 0,02*# | 0,42 ± 0,01 | 0,39 ± 0,06 |
| PWs (cm) | 0,30 ± 0,01 | 0,17 ± 0,02*# | 0,29 ± 0,03 | 0,17 ± 0,02*# |
| FS (%) | 44,01 ± 2,54 | 43,74 ± 2,67 | 43,27 ± 1,98 | 40,15 ± 1,20*# |
| EF (%) | 65,35 ± 5,38 | 68,31 ± 3,07*# | 62,94 ± 4,29 | 64,24 ± 1,49 |
| | ЗХС | | ЗИС | |
| | Пре третмана | После третмана | Пре третмана | После третмана |
| IVSd (cm) | 0,19 ± 0,02 | 0,11 ± 0,01*# | 0,18 ± 0,02 | 0,13 ± 0,01*# |
| LVIDd (cm) | 0,68 ± 0,03 | 0,59 ± 0,01*# | 0,68 ± 0,03 | 0,52 ± 0,07*# |
| PWd (cm) | 0,22 ± 0,01 | 0,17 ± 0,06*# | 0,22 ± 0,01 | 0,14 ± 0,03*# |
| IVSs (cm) | 0,21 ± 0,02 | 0,20 ± 0,02 | 0,23 ± 0,02 | 0,16 ± 0,02*# |
| LVIDs (cm) | 0,39 ± 0,03 | 0,32 ± 0,02*# | 0,41 ± 0,04 | 0,28 ± 0,01*# |
| PWs (cm) | 0,27 ± 0,03 | 0,20 ± 0,02*# | 0,29 ± 0,03 | 0,14 ± 0,02*# |
| FS (%) | 44,56 ± 2,18 | 45,75 ± 2,90 | 45,01 ± 3,73 | 46,10 ± 4,53 |
| EF (%) | 65,05 ± 5,02 | 70,55 ± 3,20*# | 67,36 ± 5,54 | 70,87 ± 4,80*# |

Дебљина зида интервентрикуларног септума на крају дијастола (IVSd), унутрашња димензија леве комора на крају дијастоле (LVIDd), дебљина задњег зида леве коморе на крају дијастола (LVPWd), и дебљина зида интервентрикуларног септума на крају систоле (IVSs), унутрашња димензија леве коморе на крају систоле (LVIDs), дебљина задњег зида леве коморе на крају систоле (LVPWs), проценат фракционог скраћења (FS) и проценат ејекционе фракције (EF). Вредности су приказане као средња вредност ± SD. * $p < 0,05$ хидрохлортиазид, спиронолактон, индапамид, зофеноприл, ЗИС и ЗХС групу у односу на контролну групу, # $p < 0,05$, за разлику пре третмана у односу на после третмана унутар групе.

4.3. Кардиодинамски параметари изолованог срца спонтано хипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима

Кардиодинамски параметари (dp/dt -max, dp/dt -min, SLVP, DLVP, HR) и коронарни проток (CF) нетретираних и антихипертензивним агенсима третираних спонтанохипертензивних пацова, као и нетретираних нормотензивних пацова након 20 минута исхемије после које је уследила тридесетоминутна реперфузија, приказани су графички (Графици 1-6, Табела 5).

4.3.1. Максимална стопа промене притиска у левој комори изолованог срца пацова

У групи пацова третираних хидрохлортиазидом и код пацова третираних индапамидом дошло је до значајног повећања вредности dp/dt max у првој тачки реперфузије у односу на период стабилизације. Код свих третираних пацова вредности dp/dt max су биле више у 30. минуту реперфузије у односу на период стабилизације. Код пацова третираних хидрохлортиазидом (61,90%), индапамидом (42,72%), спиронолактоном (29,70%), зофеноприлом (59,05%), ЗИС (28,84%), ЗХС (168,95%), а у групи спонтанохипертензивних пацова забележено је повећање вредности од свега 7,35%, док је код нормотензивних забележено је повећање вредности од 11,17% (Табела 5).

Вредности dp/dt max су биле убедљиво најниже у групи нетретираних нормотензивних пацова у свим тачкама мерења у односу на све остале групе. У групама пацова третираних хидрохлортиазидом и спиронолактоном вредности dp/dt max у тачки стабилизације су биле статистички значајно ниже у односу на контролу. Третман спиронолактоном је довео до статистички значајно нижих вредности dp/dt max, у поређењу са вредностима из контролне групе, у свим тачкама мерења током реперфузије, док је хидрохлортиазид то учинио у 10. и 15. минуту реперфузије. Индапамид је са друге стране значајно повећао вредности dp/dt max, у односу на вредности из контролне групе, у 1. минуту реперфузије и такав ефекат задржао у периоду од 20. до 30. минута реперфузије. Примена зофеноприла нија значано утицала на промену вредности dp/dt max у односу на контролу, тј. једино је у 15. минуту реперфузије забележено статистички значајно снижење, да би у последњем минуту реперфузије дошло до изједначења вредности dp/dt max. Комбинована терапија антихипертензивним агенсима – зофеноприл, индапамид и спиронолактон (ЗИС) је у првим минутима реперфузије индуковала снижење dp/dt max у поређењу са контролом, да би се те вредности готово у потпуности изједначиле у 30. минуту реперфузије. Друга комбинација (зофеноприл, хидрохлортиазид и спиронолактон - ЗХС) је постигла скоро идентичан ефекат као и самостална терапија спиронолактоном, ако упоредимо са вредностима dp/dt max у контролној групи, ЗХС је снизио вредност овог параметра у свим тачкама мерења (График 1А). Ако посматрамо последњи минут реперфузије, остоји статистички значајна разлика вредности dp/dt max између нормотензивне групе ($M=227,04$) и групе која је третирана индапамидом ($p=0,002$; $M=2573,05$) и зофеноприлом ($p=0,034$; $M=2017,30$), при чему је вредност dp/dt max у нормотензивној групи значајно нижа. Такође, утврђено је да постоји статистички значајна разлика вредности dp/dt max између групе пацова која је третирана индапамидом ($M=2573,05$) у односу на оне који су третиране спиронолактоном ($p=0,026$; $M=1340,50$) и комбинацијом ЗХС ($p=0,022$; $M=826,49$) (График 1Б).

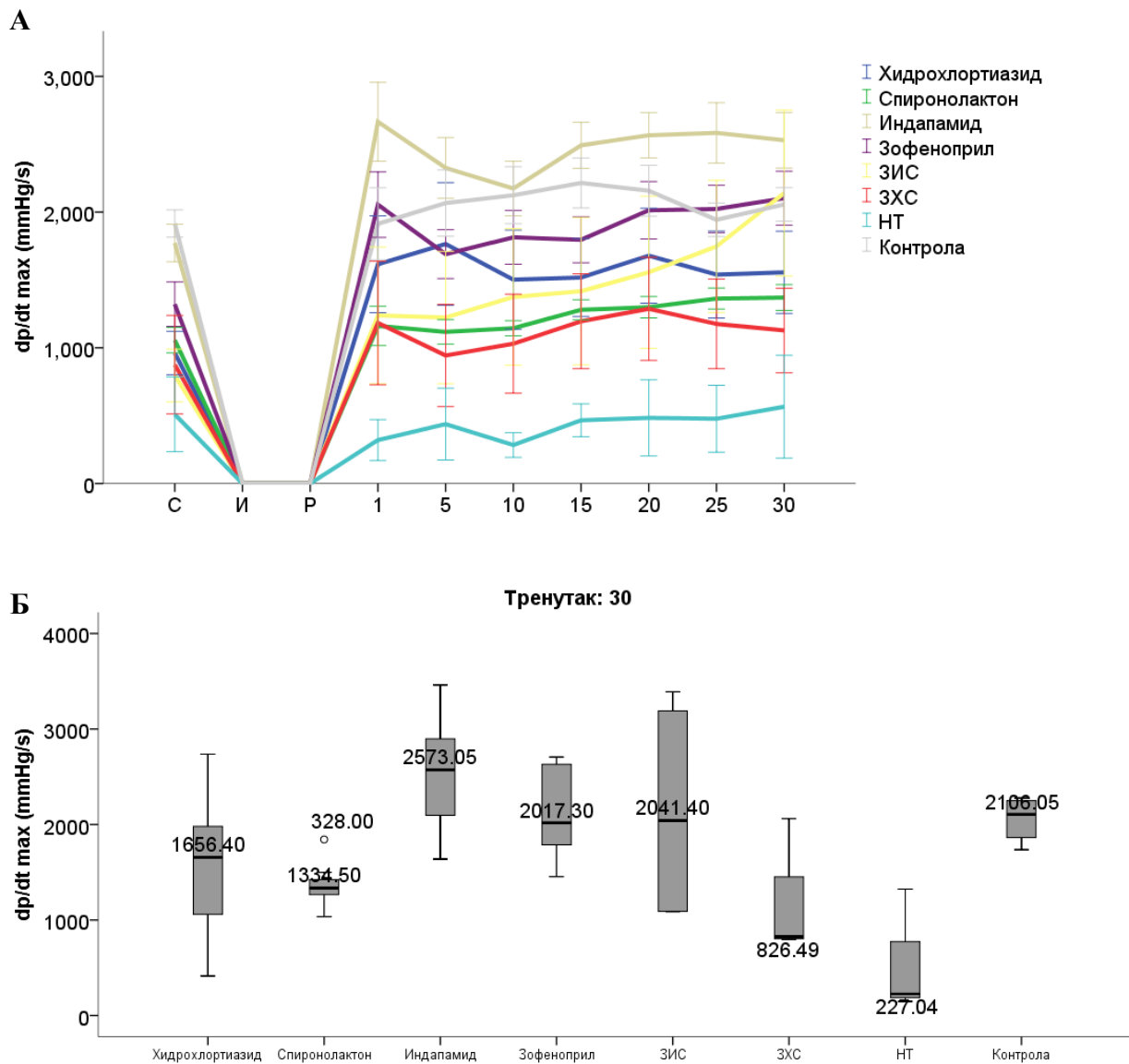


График 1. Средња вредност максималне стопе промене притиска леве коморе изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност \pm SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана \pm SD).

4.3.2. Минимална стопа промене притиска у левој комори изолованог срца пацова

Апсолутне вредности $dp/dt \min$ пацова свих третираних група (осим групе третиране индапамидом) су биле статистички значано ниже у односу на вредности из контролне групе у тачки стабилизације, али и при већини тачака током реперфузије. Нормотензивни пацови су имали убедљиво најниже вредности $dp/dt \min$ у односу на све остале групе. Вредности $dp/dt \min$ у групама пацова третираних хидрохлортиазидом, спиронолактоном или ЗИС комбинацијом су биле међусобно врло сличне и статистички значајно ниже у свим тачкама мерења током реперфузију, тј. од 1. до 30 минута, у поређењу са контролом. Док је ЗХС комбинација још израженије индуковала снижење вредности $dp/dt \min$ (**График 2А**). Код пацова третираних антихипертензивним агенсима апсолутне вредности $dp/dt \min$ су биле више у 30. минуту реперфузије у односу на период стабилизације, хидрохлортиазид (61,06%), индапамид (26,26%), спиронолактон (21,12%), зофеноприлом (80,03%), ЗХС (157,28%), док је у контролној групи је забележено смањење апсолутне вредности $dp/dt \min$ од 6,96% и у ЗИС смањење апсолутне вредности $dp/dt \min$ од 14,12% (**Табела 5**).

Поређењем у последњем минуту реперфузије, уочава се статистички значајна разлика вредности $dp/dt \min$ између групе нормотензивних ($M=-130,20$) и групе која је третирана индапамидом ($p=0,028$; $M=-1395,50$) и зофеноприлом ($p=0,022$; $M=-1388,00$), при чему је апсолутна вредност $dp/dt \min$ у нормотензивној групи значајно нижа (**График 2Б**).

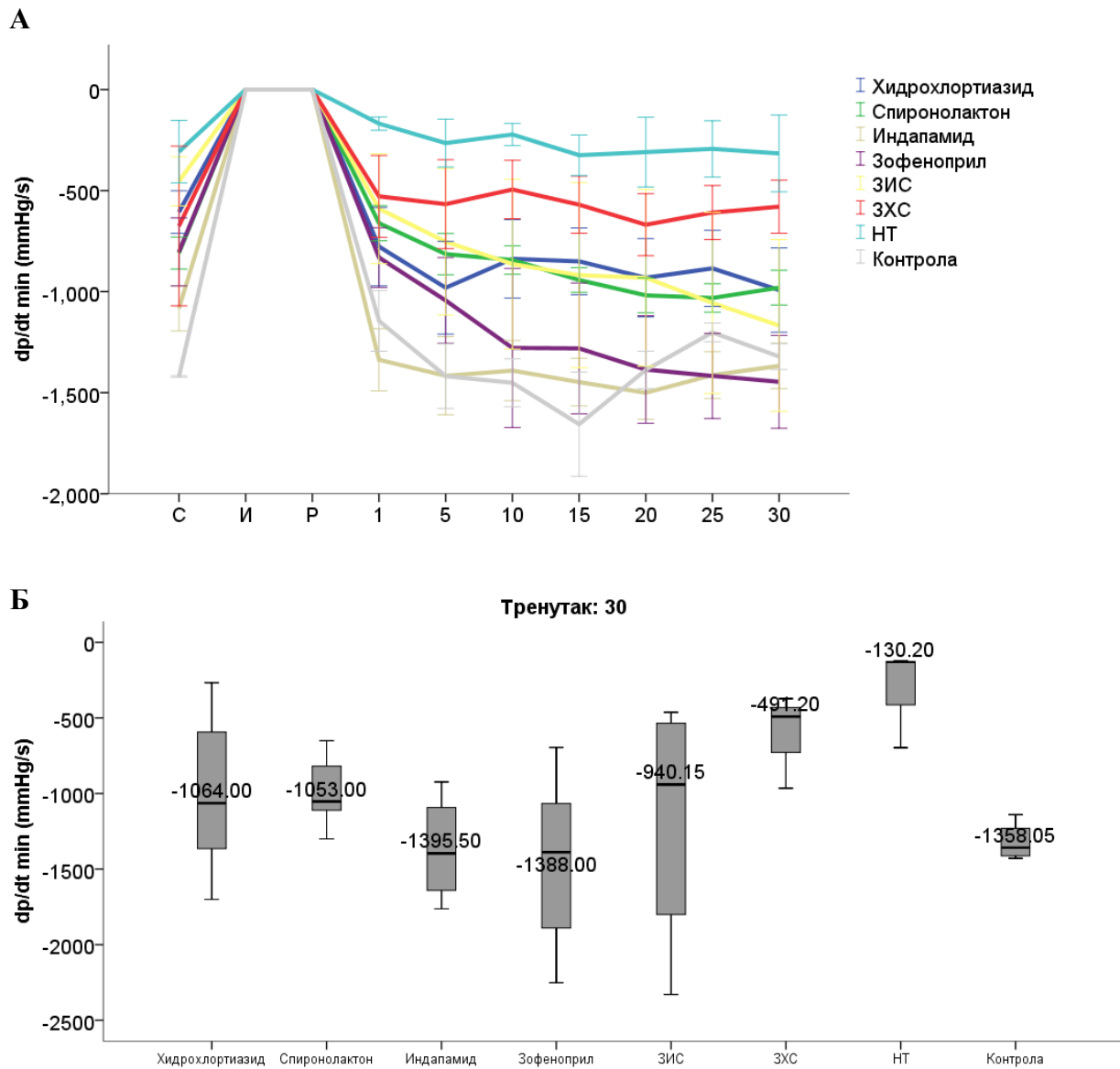


График 2. Средња вредност минималне стопе промене притиска леве коморе изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност \pm SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана \pm SD).

4.3.3. Систолни притисак леве коморе изолованог срца пацова

Вредности SLVP у моменту стабилизације су биле статистички значајно ниже у свим групама третираним антихипертензивним агенсима у поређењу са вредносима у контролној групи. Исти тренд је задржан и током реперфузије, изузев првих 5 минута реперфузије у групи третираној индапамидом, да би у 30. минуту реперфузије индапамид постигао значајно снижење у поређењу са контролом (**График 3А**). Зофеноприл и хидрохлортиазид су имали јако сличан ефекат на SLVP током свих 30 минута реперфузије, као што су и спиронолактон, ЗИС и ЗХР међусобно постигли веома сличан ефекат на SLVP, уједно и највеће снижење вредности SLVP.

Код свих третираних пацова вредности SLVP су биле више у 30. минуту реперфузије у односу на период стабилизације (осим у ЗИС групи код које је забележено снижење од 7,86%). Процентуално повећање код пацова третираних антихипертензивнима је следеће: хидрохлортиазидом (12,66%), индапамидом (18,55%), спиронолактоном (2,24%), зофеноприлом (22,84%), ЗИС (83,85%), а у групи спонтанохипертензивних пацова забележено је смањење вредности од 0,75%, док је код нормотензивних забележено је повећање вредности од 4,88% (**Табела 5**).

У 30. минуту реперфузије постоји статистички значајна разлика вредности SLVP између контролне групе ($M=65,00$) и групе која је третирана спиронолактоном ($p=0,009$; $M=24,44$) и комбинацијом ЗХС ($p=0,023$; $M=21,88$), при чему је вредност SLVP у контролној групи значајно већа. Постоји и статистички значајна разлика вредности SLVP између нормотензивне групе ($M=8,13$) и групе која је третирана хидрохлортиазидом ($p=0,050$; $M=38,66$) и индапамидом ($p=0,010$; $M=49,01$), при чему је вредност SLVP у нормотензивној групи значајно мања (**График 3Б**).

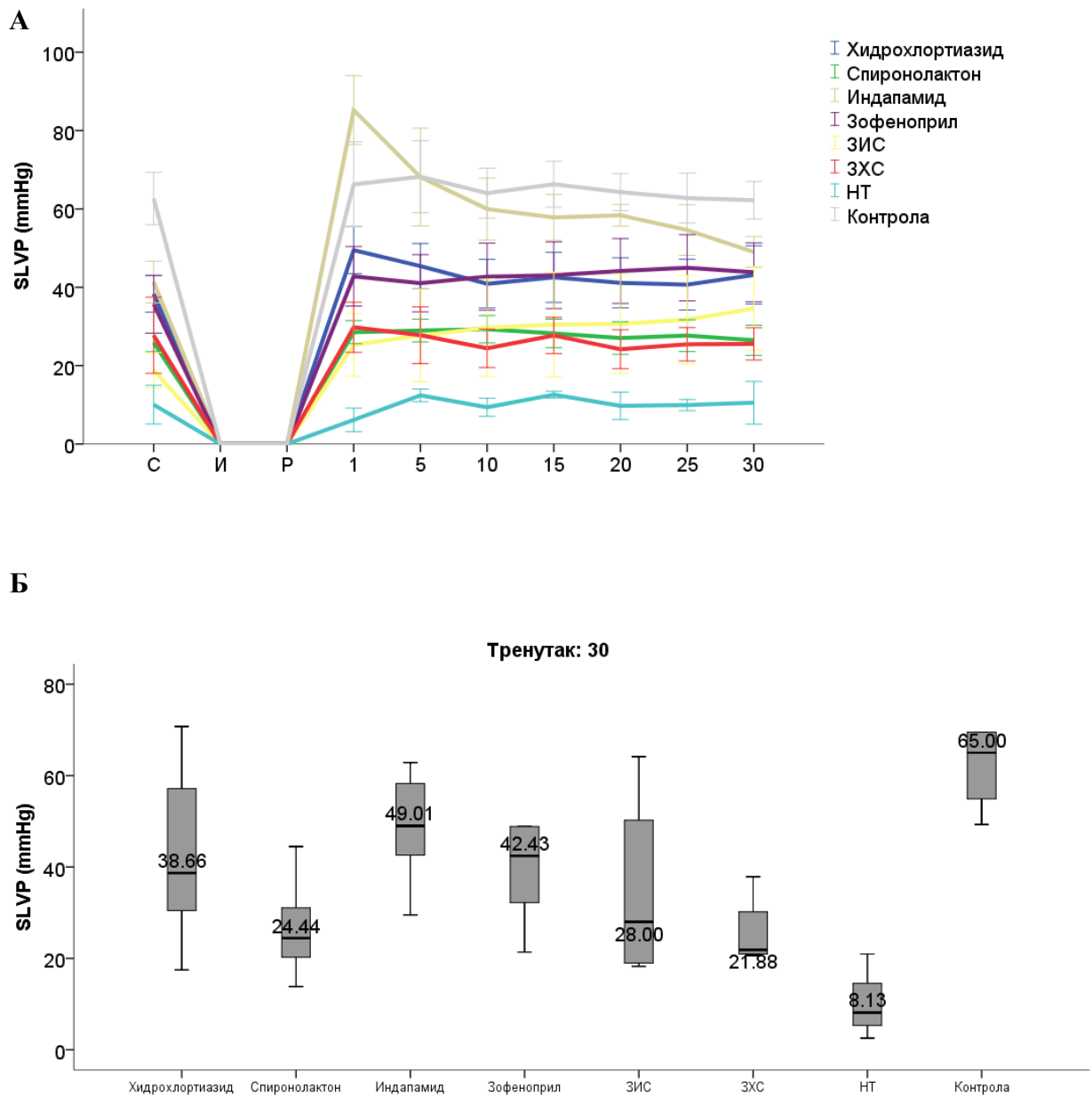


График 3. Средња вредност систолног притиска леве коморе изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност \pm SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана \pm SD).

4.3.4. Дијастолни притисак леве коморе изолованог срца пацова

Хидрохлортиазид је индуковао статистички значајно повећање вредности DLVP при свим тачкама мерења, тј. и за време стабилизације и током свих мерења током реперфузије у односу и на спонтанохипертензивну контролу и на нормотензивну контролу. Најниже вредности DLVP су забележене у нетретираној спонтанохипертензивној групи и групи третираној индапамидом, мада је индапамид постигао статистички значајно више вредности DLVP у првом минути реперфузије. Групе третиране зофеноприлом и комбинованим третманом (ЗИС и ЗХС) су заправо имале вредности DLVP врло блиске вредностима нормотензивних нетретираних пацова у првих 15 минута реперфузије, да би последњих 10 минута нормотензивна група имала ниже вредности овог параметра (**График 4**).

Највећи процентуални пораст вредности DLVP у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групи третираној спиронолактоном (62,31%), а потом и у групи третираној зофеноприлом у комбинацији са хидрохлортиазидом и спиронолактоном (39,61%), а највећи процентуални пад вредности DLVP у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групама третираним зофеноприлом у комбинацији са индапамидом и спиронолактоном (-20,19%) (**Табела 5**).

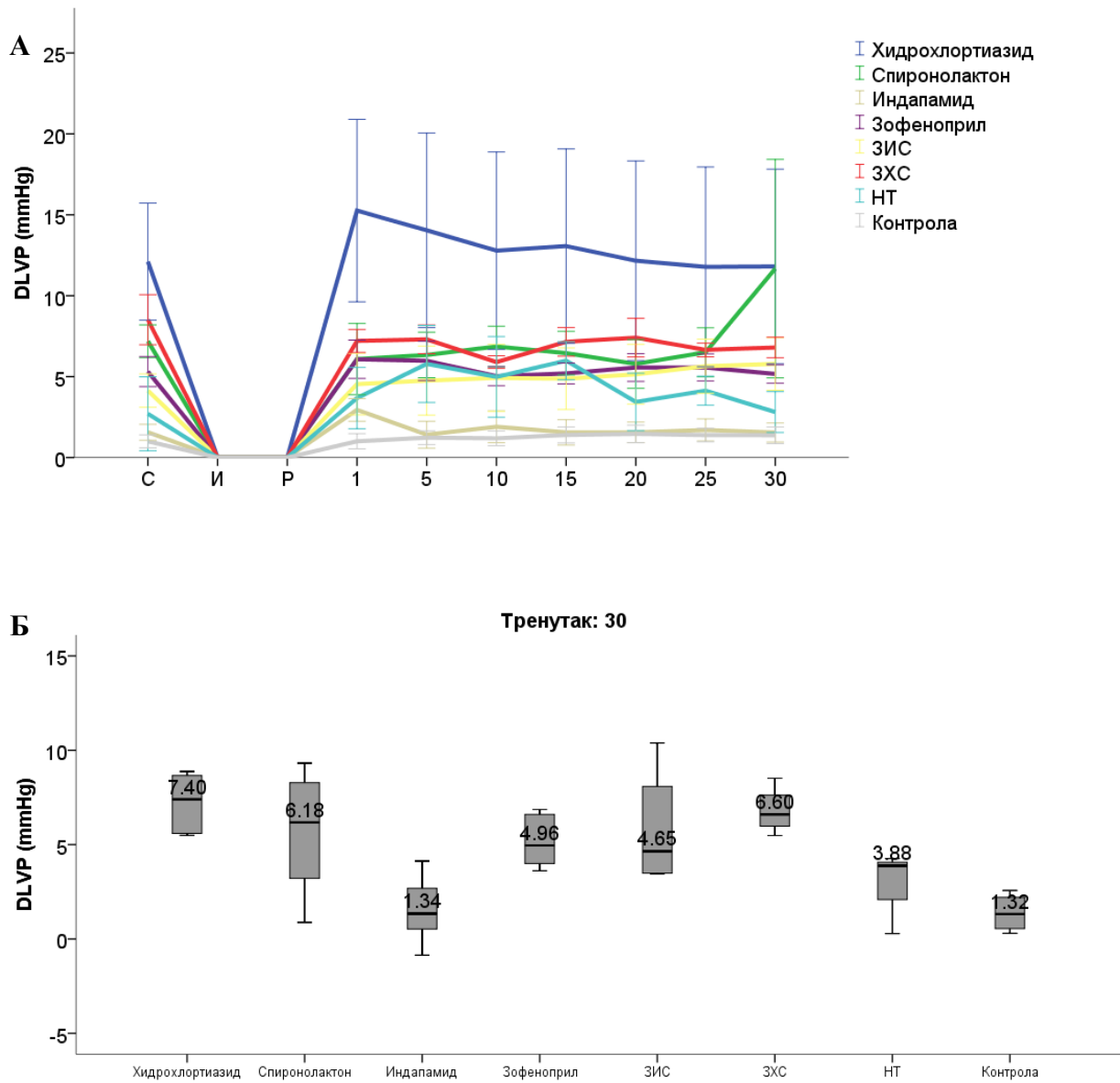


График 4. Средња вредност дијастолног притиска леве коморе изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност \pm SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана \pm SD).

4.3.5. Срчана фреквенца изолованог срца пацова

Срчана фреквенца се није значајно разликовала када се упореде контролна спонтнохипертензивна и експерименталне групе у тренутку стабилизације и од 5. до 30. минута реперфузије. Међутим сви примењени антихипертензивни агенси, самостално или у комбинацији довели су до снижења HR у 1. и 5. минуту реперфузије, а једино је хидрохлортиазид индуковао повећање HR у последњем тренутку репрфузије у односу на тренутак стабилизације (**График 5А**). Група пацова третирана индапамидом и група која је третирана ЗХС комбинацијом су имале најниже вредности HR све време реперфузије, док је у ЗХС групи забележен додатни пад у 30. минуту (**График 5Б**).

Највећи процентуални пораст вредности срчане фреквенце у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групи третираној хидрохлортиазидом (27,98%), а највећи процентуални пад вредности срчане фреквенце у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групама третираним зофеноприлом у комбинацији са индапамидом и спиронолаконом (-31,39%) (**Табела 5**).

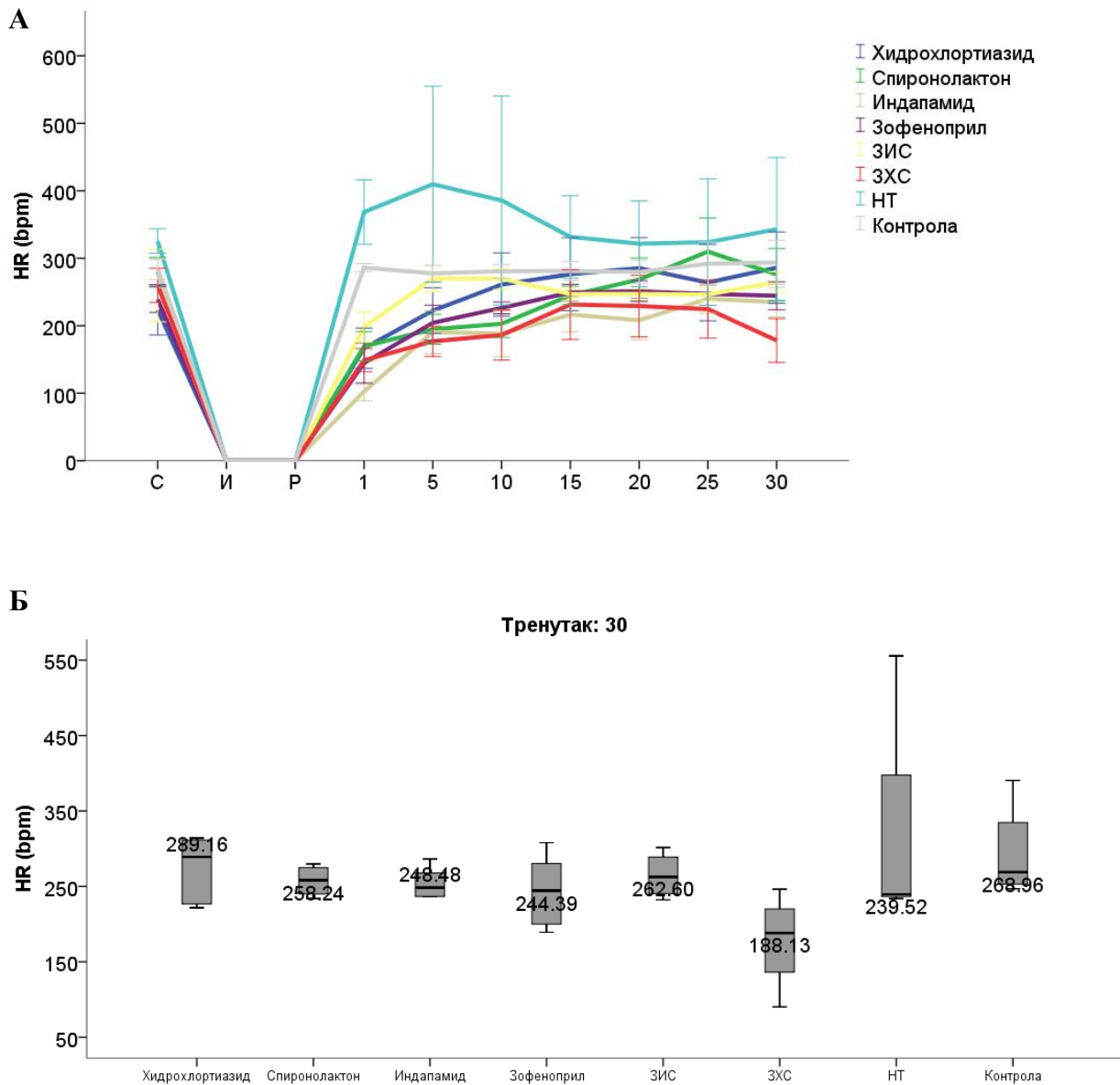


График 5. Средња вредност срчане фреквенце изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност \pm SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана \pm SD).

4.3.6. Коронарни проток изолованог срца пацова

Спиринолактон је статистички значајно снизио коронарни проток у свим тачкама мерења, тј. и за време стабилизације и током свих мерења током реперфузије у односу на контролу у уједно у тој групи је забележен најнижи проток током целе реперфузије. Индапамид и хидрохлортиазид су слично утицали на коронарни проток и те вредности су биле нешто више у односу на вредности CF у спиринолактон групи. Међусобно сличне вредности CF су имале и контролне групе, нормотензивна и хипертензивна. А највише вредности CF су забележене код групе третиране комбинацијом ЗИС и самостално зофеноприлом и те вредности су међусобно јако блиске у свим тачкама мерења. Код оба комбинована третмана је забележен пад CF у 30. минуту реперфузије у односу на период стабилизације, поготову у ЗХС групи (**График 6А**). У 30. минуту реперфузије постоји статистички значајна разлика ($p=0,025$) вредности CF између групе пацова која је третирана спиринолактоном ($M=5,80$) и групе пацова која је третирана зофеноприлом ($M=10,60$), при чему су значајно веће вредности CF код пацова који су третирани зофеноприлом (**График 6Б**).

Код свих третираних пацова вредности коронарног протока су биле ниже у 30. минуту реперфузије у односу на период стабилизације. Код пацова третираних хидрохлортиазидом (-8,15%), индапамидом (-6,02%), спиринолактоном (-9,83%), зофеноприлом (-4,43%), ЗИС (-32,83%) и ЗХС (-12,45%), а у групи спонтанохипертензивних пацова забележено је повећање вредности од 1,90%, док је код нормотензивних забележено је повећање вредности од 16,90% (**Табела 5**).

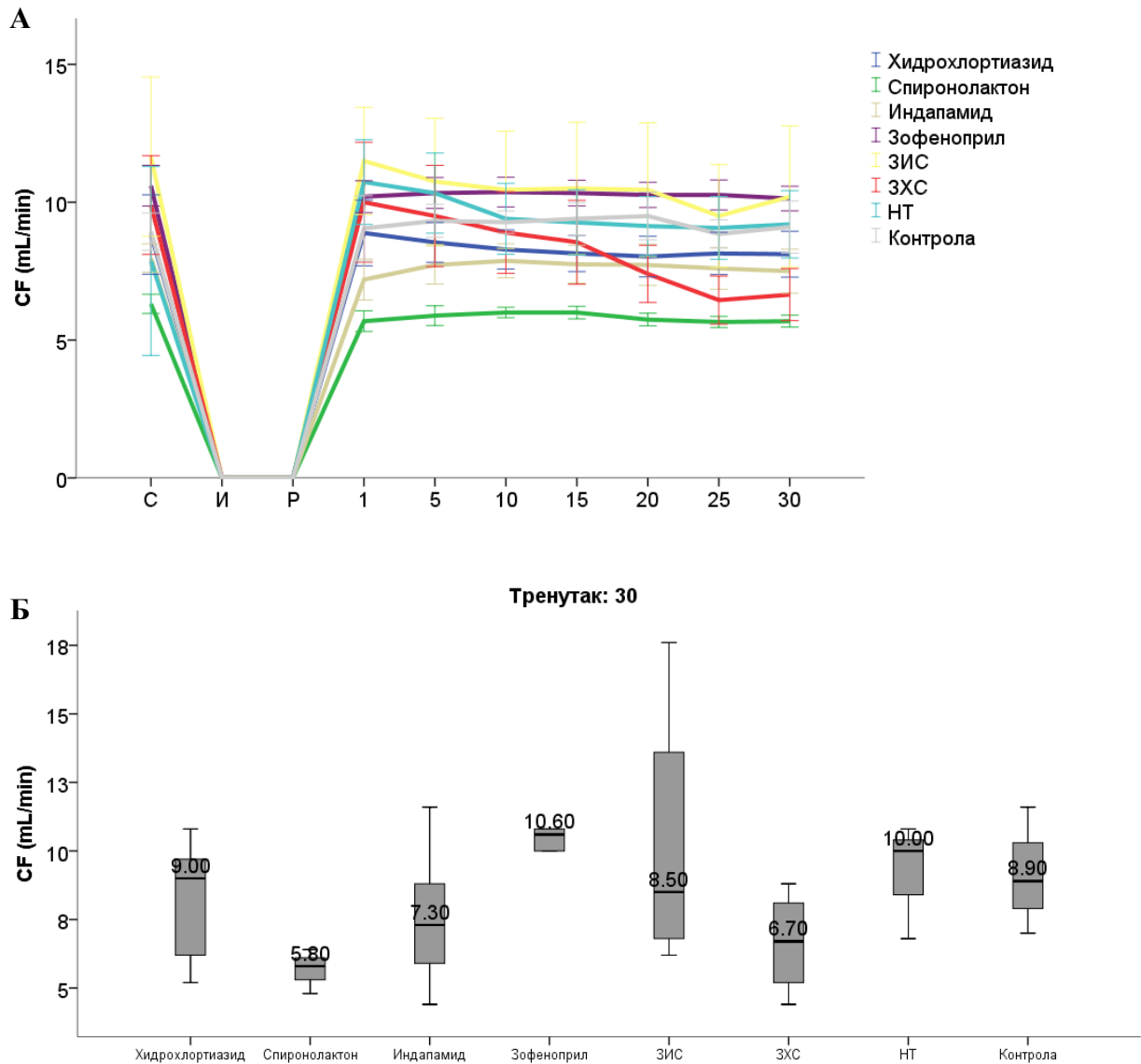


График 6. Средња вредност коронарног протока изолованог срца нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија (подаци су представљени као средња вредност ± SD). Б) изолован 30. минут реперфузије (подаци су представљени као медијана ± SD).

Табела 5. Процент пораста или пада вредности кардиодинамских параметара у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације.

| % | dp/dt max | dp/dt min | SLVP | DLVP | HR | CF |
|-----------------|--------------|--------------|-------|--------|--------|--------|
| Хидрохлортиазид | 61,90 | 61,06 | 12,66 | -2,56 | 27,98 | -8,15 |
| Спиранолактон | 29,70 | 21,12 | 2,24 | 62,31 | -1,28 | -9,83 |
| Индапамид | 42,72 | 26,26 | 18,55 | -0,64 | -15,34 | -6,02 |
| Зофеноприл | 59,05 | 80,03 | 22,84 | -2,82 | 2,17 | -4,43 |
| ЗХС | 168,95 | 157,28 | 83,85 | 39,61 | 1,95 | -12,45 |
| ЗИС | 28,84 | -14,12 | -7,86 | -20,19 | -31,39 | -32,83 |
| Контрола | 7,35 | -6,96 | -0,75 | 38,00 | 3,38 | 1,90 |
| НТ | 11,17 | 2,76 | 4,88 | 3,69 | 5,36 | 16,90 |

4.4. Коронарни оксидациони стрес спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима

Концентрације про-оксиданационих маркера (O_2^- , NO_2^- , H_2O_2 и TBARS) одређивне су из коронарног венског ефлуета нетретираних нормотензивних и нетретираних и антихипертензивним агенсима третираних спонтанохипертензивних пацова, сакупљеног у тренутку стабилизације (С), затим у првом минуту реперфузије (Р) након исхемије (И) и потом на сваких 5 минута током тридесетомнутне реперфузије, а њихове вредности приказане су графички (Графици 7-10, Табела 6).

4.4.1. Супероксид анјон радикал (O_2^-)

Највише вредности O_2^- у коронарном венском ефлуену у првих 10 минута реперфузије су забележене код нормотензивних пацова, док у последњих 10 минута реперфузије то је био случај у групи нетретираних спонтанохипертензивних пацова. Поступак исхемија-реперфузија није довео до значајне промене у концентрацији испитиваних маркера оксидационог стреса у 30. минуту реперфузије у односу на вредности забележене у тренутку стабилизације, односно пре исхемије, како у контролној групи, тако и код пацова третираних антихипертензивним агенсима. Вредности супероксид анјон радикала су биле статистички значајно ниже у свим групама третираним антихипертензивним агенсима у поређењу са контролом групом, у тренутку стабилизације, али и при већини тачака у којима су вршена мерења у току реперфузије (График 7). Највећи процентуални пораст вредности супероксид анјон радикала у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групи третираној спиронолактоном, а највећи процентуални пад вредности супероксид анјон радикала у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групама третираним зофеноприлом самостално или у комбинацији (Табела 6).

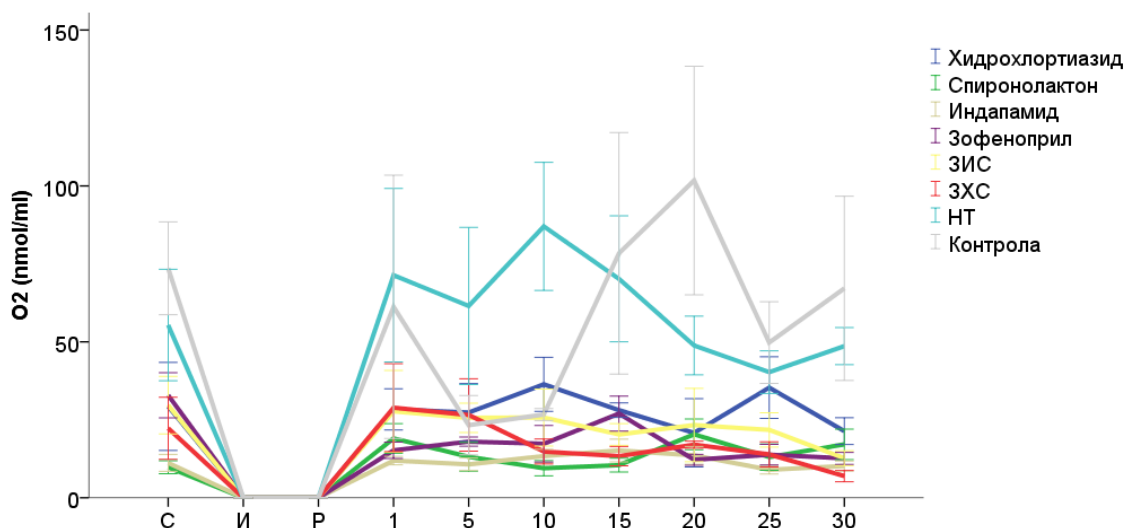


График 7. Средња вредност супероксид анјон радикала у коронарном венском ефлуенту нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија. Подаци су представљени као средња вредност \pm SD.

4.4.2. Азот моноксид (NO)

Највиши ниво азот монооксида је забележен контролним групама, и нормотензивној и хипертензивној и те вредности су биле међусобно веома сличне од 5. до 30. минута реперфузије, једино у 1. минуту реперфузије су забележене нешто више вредности у нормотензивних групи. Значајно снижење вредности азот монооксида у коронаром венском ефлуенту у свим тачкама мерења у поређењу са контролом постигли су спиронолактон и хидрохлортиазид и комбинован третман ЗХС у последњих 10 минута реперфузије. Третмани индапамидом, зофеноприлом и комбинацијом ЗИС су дали исти ефекат што се тиче вредности азот монооксида (**График 8**). Ни у једној од контролних, нити експерименталних група није забележен процентуални пораст вредности азот монооксида у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације, док је највећи процентуални пад вредности азот монооксида у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен код нетретираних нормотензивних пацова и у групи третираној хидрохлортиазидом (**Табела 6**).

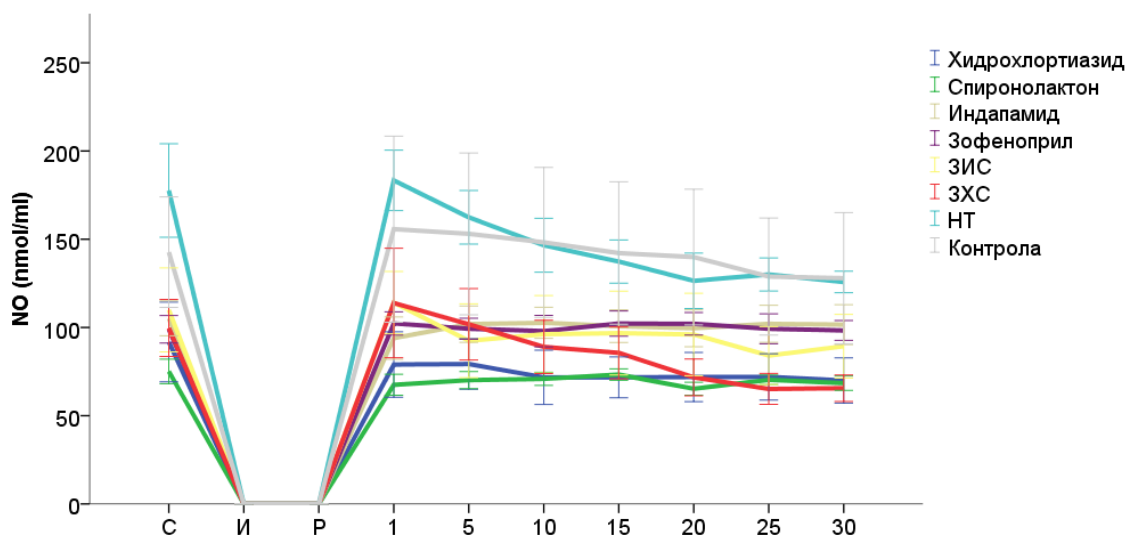


График 8. Средња вредност азот монооксида у коронаром венском ефлуенту нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија. Подаци су представљени као средња вредност \pm SD.

4.4.3. Водоник пероксид (H_2O_2)

Ниво водоник пероксида у коронаром венском ефлуенту је убедљиво био највиши и свим тачкама одређивања у групи нормотензивних пацова. Спиринолактон је са друге стране довео до статистички значајног пада вредности водоник-пероксида у коронаром венском ефлуенту при свим мерењима у поређењу са контролом, индапамид такође, сем у последњем минуту реперфузије. Хидрохлортиазид и ЗИС третман су имали исти утицај на ниво H_2O_2 , док су до међусобно сличних вредности H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту довели зофеноприл и ЗХС у првих 15 минута реперфузије (**График 9**). Највећи процентуални пораст вредности водоник пероксида у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групи третираној индапамидом, а највећи процентуални пад вредности водоник пероксида у 30. минуту реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен је у групи третираној зофеноприлом, хидрохлортиазидом и спиринолактоном у комбинацији (**Табела 6**).

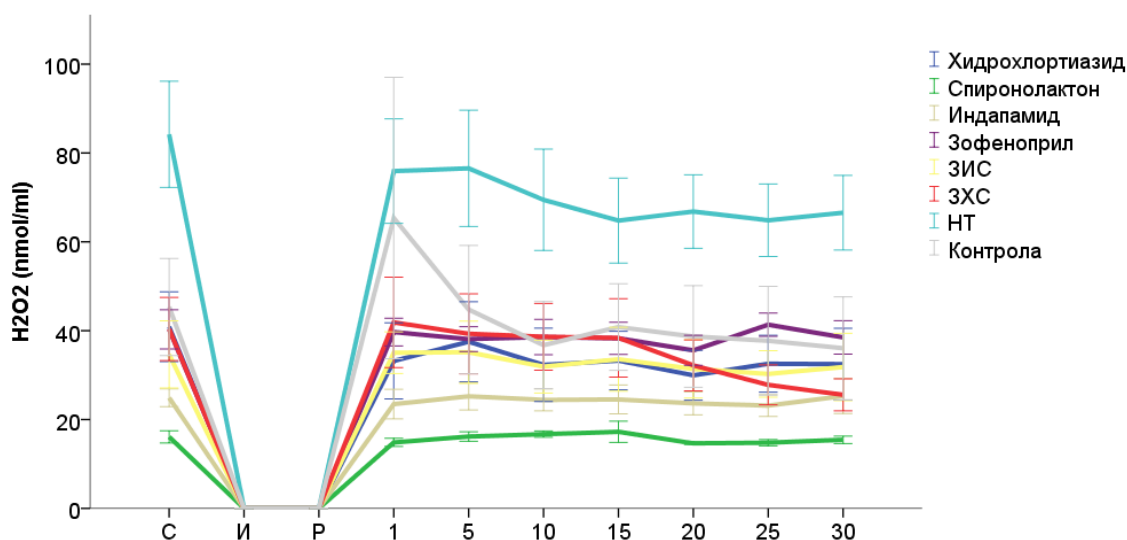


График 9. Средња вредност водоник пероксида у коронаром венском ефлуенту нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија. Подаци су представљени као средња вредност \pm SD.

4.4.4. Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Степен индекса липидне пероксидације је био највиши код нетретираних спонтанохипертензивних пацова. Спинонолактон је довео до најзначајнег пада вредности индекса липидне пероксидације у коронарном венском ефлунту у свим тачкама мерења у поређењу са контролом. Сви остали третмани су постигли приближан ефекат и те вредности су биле између оних постигнутих у спирононолактон групи и оних у контролној групи (**График 10**). Ни у једној од контролних, нити експерименталних група није забележен процентуални пораст вредности TBARS у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације, док је највећи процентуални пад вредности TBARS у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације забележен код нетретираних нормотензивних пацова и у групи третираној зофеноприлом, хидрохлортиазидом и спиронолактоном у комбинацији (**Табела 6**).

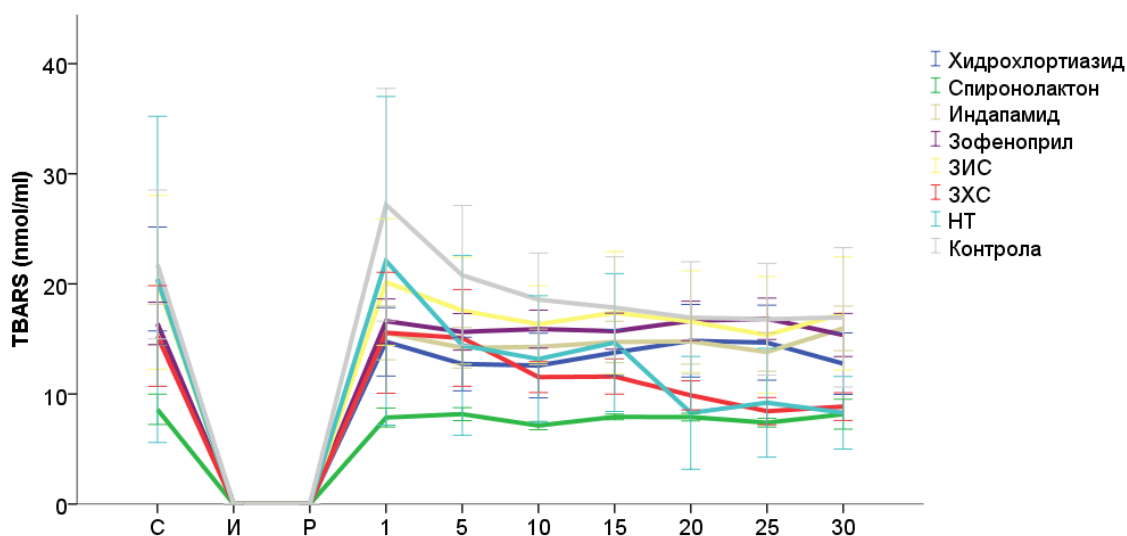


График 10. Средња вредност TBARS-а у коронаром венском ефлунту нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. С-стабилизација, И-исхемија, Р-реперфузија. Подаци су представљени као средња вредност \pm SD.

Табела 6. Процент пораста или пада вредности параметара оксидационог стреса у 30. минути реперфузије у односу на тачку стабилизације.

| % | O₂ | H₂O₂ | TBARS | NO |
|-----------------|----------------------|-----------------------------------|--------------|-----------|
| Хидрохлортиазид | -27,06 | -20,64 | -37,57 | -23,76 |
| Спиринолактон | 75,05 | -4,10 | -5,23 | -8,86 |
| Индапамид | -9,03 | 17,67 | -2,02 | -3,39 |
| Зофеноприл | -61,58 | -4,54 | -6,40 | -0,65 |
| ЗИС | -57,24 | -8,17 | -14,01 | -18,74 |
| ЗХС | -68,79 | -36,68 | -42,01 | -34,26 |
| НТ | -12,22 | -20,97 | -59,33 | -29,19 |
| Контрола | -8,72 | -20,49 | -22,06 | -10,32 |

4.5. Системски оксидациони стрес код спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима

Концентрације про-оксиданационих маркера (O_2^- , NO_2^- , H_2O_2 и TBARS), ензима антиоксидатвне заштите (CAT, SOD) и нензимског антиоксиданаса - глутатиона (GSH) одређиване су из плазме нетретираних нормотензивних и нетретираних и антихипертензивним агенсима третираних спонтанохипертензивних пацова, а њихове вредности приказане су графички (**Графици 11-17**).

4.5.1. Супероксид анјон радикал (O_2^-)

Вредности системског супероксид анјон радикала су биле највише код спонтанохипертензивних пацова који нису третирани, потом тродупло ниже вредности су забележене у нормотензивној контроли. Антихипертензивима третирани пацови су имали ниже вредности O_2^- у односу на контролу, али и у односу на нормотензивне пацове. Најниже вредности системског O_2^- су забележене у групама третираним дуретицима, редом, хидрохлортиазидом, спиронолактоном, па индапамидом. Дупло више вредности су забележене у групи третираној АЦЕ-инхибитором – зофеноприлом и комбинацијама са зофеноприлом – ЗХС и ЗИС (**График 11А**).

Постоји статистички значајна разлика између вредности O_2^- у контролној групи ($M=25,37$) и свих осталих група ($p<0,05$; $M=0,99-5,93$), при чему је вредност O_2^- у контролну групу значајно већа. Забележене су ниже вредности O_2^- код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом у односу на групе које су третиране зофеноприлом и комбинацијама ЗИС и ЗХС, али ова разлика није статистички значајна (**График 11Б**).

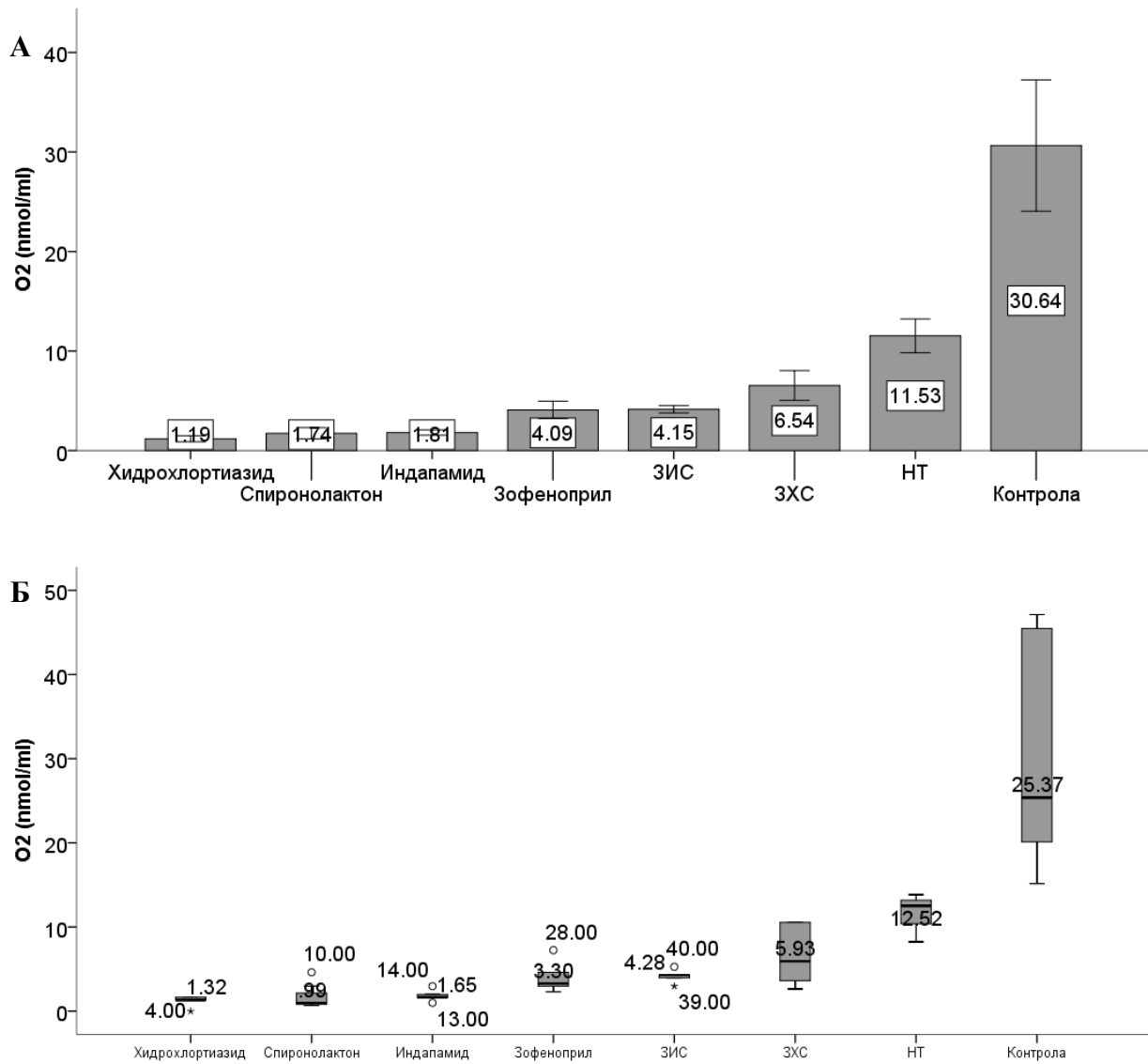


График 11. Средња вредност супероксид ањон радикала у плазми нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност ± SD. Б) подаци су представљени као медијана ± SD.

4.5.2. Водоник пероксид (H_2O_2)

Највише вредност водоник пероксида су забележене у групама третираним АЦЕ-инхибитором – зофеноприлом, самостално или у комбинацији – ЗХС и ЗИС и у групи нетретираних нормотензивних пацова. Нетретирана спонтанохипертензивна група пацова је имала скоро duplo ниже вредности водоник пероксида у плазми од нормотензивних пацова. Најниже вредности водоник пероксида су забележене у групама третираним дуретицима, хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом (**График 12А**).

Постоји статистички значајна разлика између вредности H_2O_2 код контролне групе ($M=3,26$) и група које су користиле зофеноприл ($p=0,000$; $M=5,84$) као и комбинације ЗИС ($p=0,000$; $M=4,89$) и З+Х+С ($p=0,000$; $M=6,35$), при чему су вредности H_2O_2 значајно мање код контролне групе. Постоји статистички значајна разлика између вредности H_2O_2 код нормотензивних пацова ($M=5,65$) и спонтанохипертензивних пацова који су третиран хидрохлортиазидом ($p=0,000$; $M=2,57$), спиронолактоном ($p=0,000$; $M=2,53$) и индапамидом ($p=0,000$; $M=2,47$), при чему су вредности H_2O_2 значајно веће код нормотензивних пацова.

Значајно су мање вредности H_2O_2 код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом ($p<0,05$; $M=2,47-2,57$) у односу на групе које су третране зофеноприлом и комбинацијама ЗИС и ЗХС ($p<0,05$; $M=4,89-6,35$) (**График 12Б**).

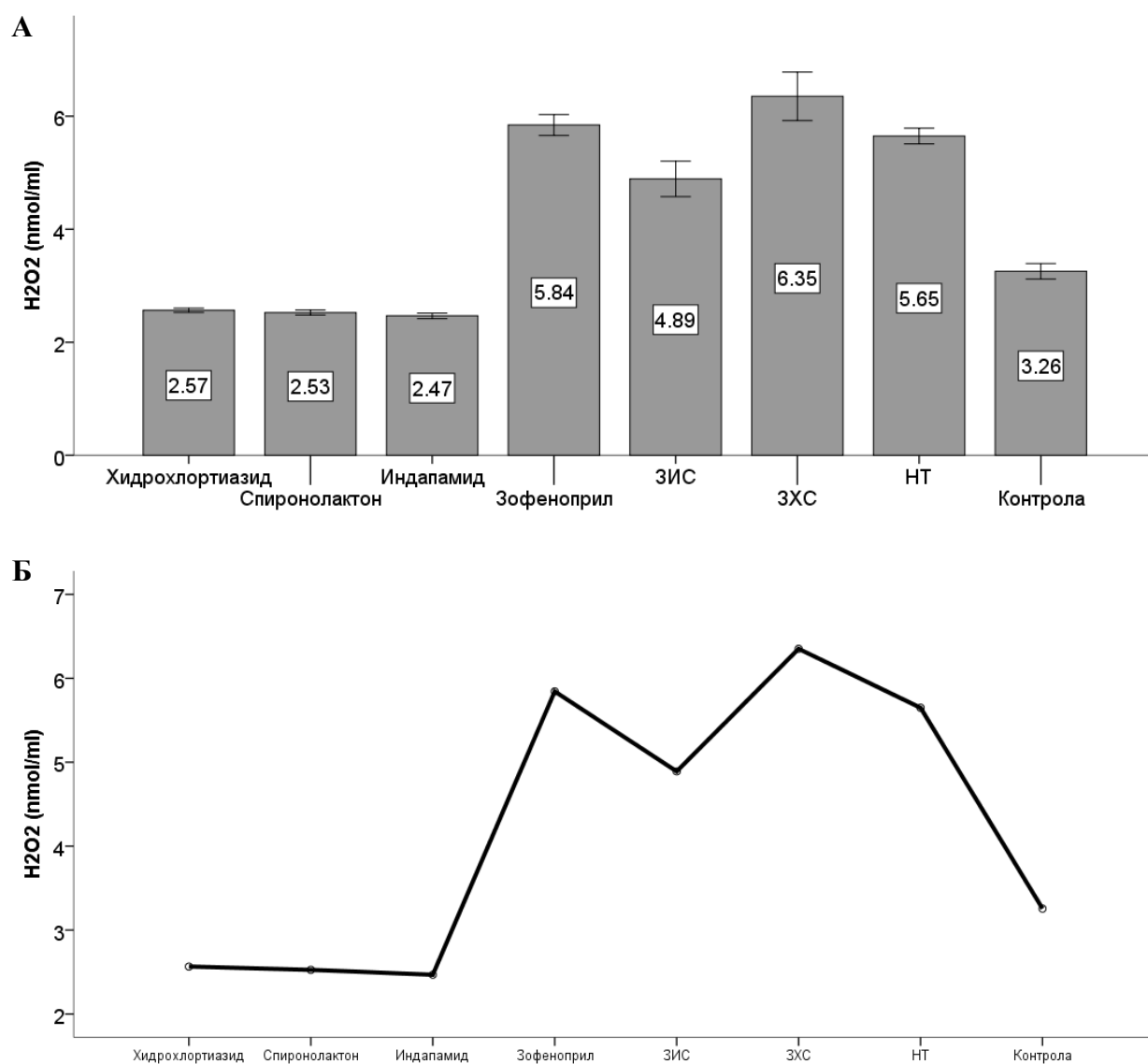


График 12. Средња вредност водоник пероксида у плазми нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност \pm SD. Б) подаци су представљени као медијана \pm SD.

4.5.3. Азот моноксид (NO)

Најниже вредности азот монооксида у плазми су забележене у групама третираним дуретицима у трајању од 4 недеље, и то у свим групама - хидрохлортиазид, спиронолактон и индапамид. И код овог прооксидативног параметра зофеноприл, самостално или у комбинацији – ЗХС и ЗИС је довео до највећег ослобађања азот монооксида, али те вредности нису биле значајно више од оних забележених у групи нетретираних нормотензивних пацова, али су биле нешто више у поређењу са спонтанохипертензивном групом (**График 13А**).

Постоји статистички значајна разлика између вредности NO код контролне групе (M=5,68) и свих осталих група ($p < 0,05$; M=2,42-8,87), при чему су вредности NO значајно веће код контролне групе у односу на хидрохлортиазид, спиронолактон и индапамид док су мање у односу на зофеноприл, као и комбинације ЗИС и ЗХС.

Постоји статистички значајна разлика између вредности NO код нормотензивне групе (M=8,35) и група које су третиране хидрохлортиазидом ($p=0,000$; M=2,42), спиронолактоном ($p=0,000$; M=2,46) и индапамидом ($p=0,000$; M=2,42), при чему су вредности NO значајно веће код нормотензивне контролне групе.

Значајно су мање вредности NO код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом (M=2,42-2,46) у односу на групу које су третиране зофеноприлом и комбинацијама ЗИС и ЗХС ($p < 0,05$; M=8,31-8,87) (**График 13Б**).

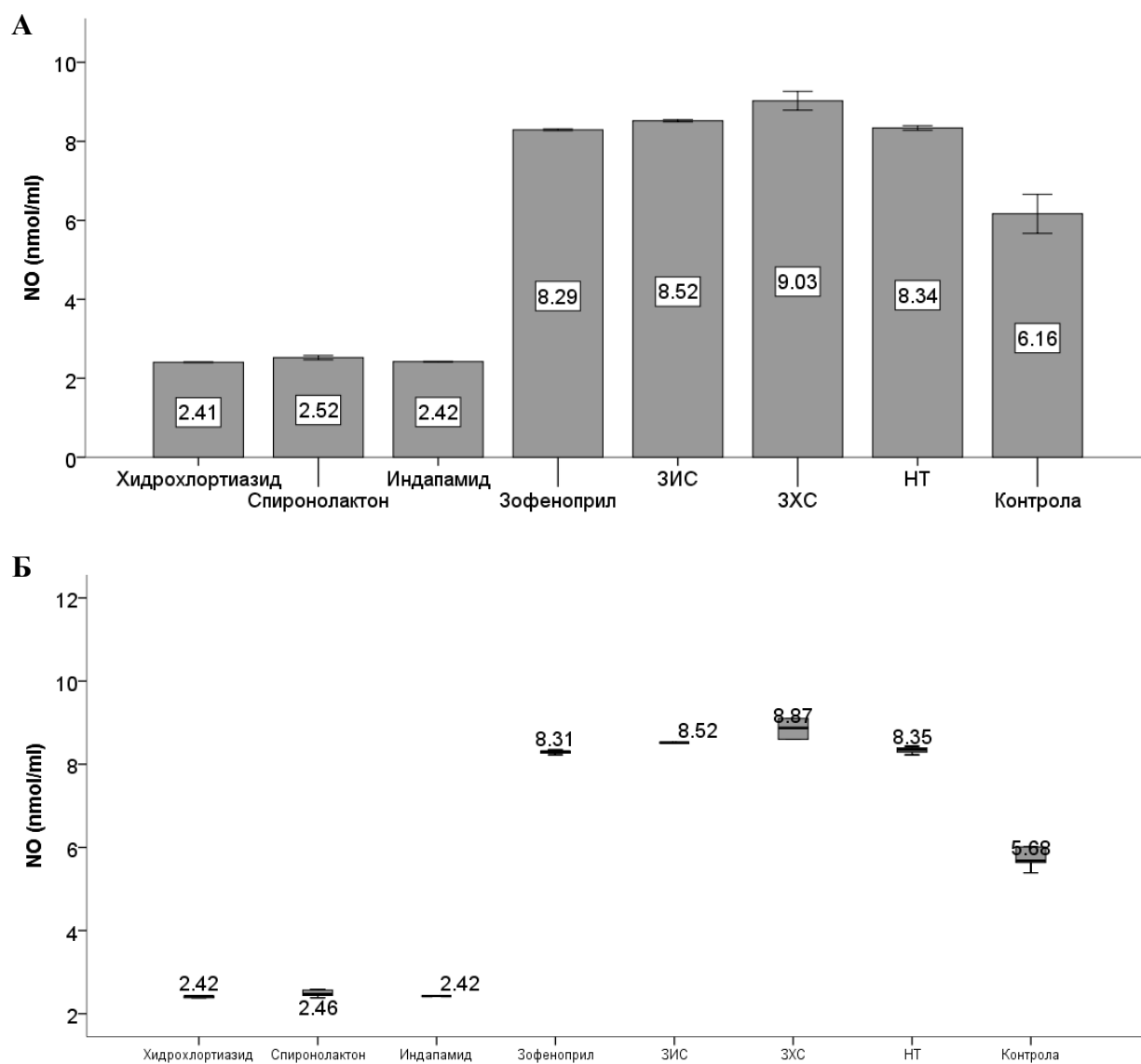


График 13. Средња вредност азот монооксида у плазми нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност \pm SD. Б) подаци су представљени као медијана \pm SD.

4.5.4. Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Највише вредности индекса липидне пероксидације су забележене у групи нетретираних нормотензивних пацова, а потом у групама третираним АЦЕ-инхибитором – зофеноприлом, самостално или у комбинацији – ЗХС и ЗИС. Нетретирана спонтанохипертензивна група пацова је имала скоро duplo ниже вредности вредности TBARS у плазми од нормотензивних пацова. Најниже вредности TBARS су забележене у групама третираним дуретицима, хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом (**График 14А**).

Постоји статистички значајна разлика између вредности TBARS код контролне групе ($M=1,98$) и свих осталих група ($p<0,05$; $M=0,91-4,25$), при чему су вредности TBARS значајно веће код контролне групе у односу на хидрохлортиазид, спиронолактон и индапамид, док су мање у односу на зофеноприл, као и комбинације ЗИС и ЗХС.

Постоји статистички значајна разлика између вредности TBARS код нормотензивне контролне групе ($M=5,29$) и свих осталих група ($p<0,05$; $M=0,91-4,25$), при чему су вредности TBARS значајно веће код нормотензивне контролне групе.

Значајно су мање вредности TBARS код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом ($M=0,91-1,04$) у односу на групе које су користиле зофеноприл и комбинације ЗИС и ЗХС ($p<0,05$; $M=4,10-4,25$) (**График 14Б**).

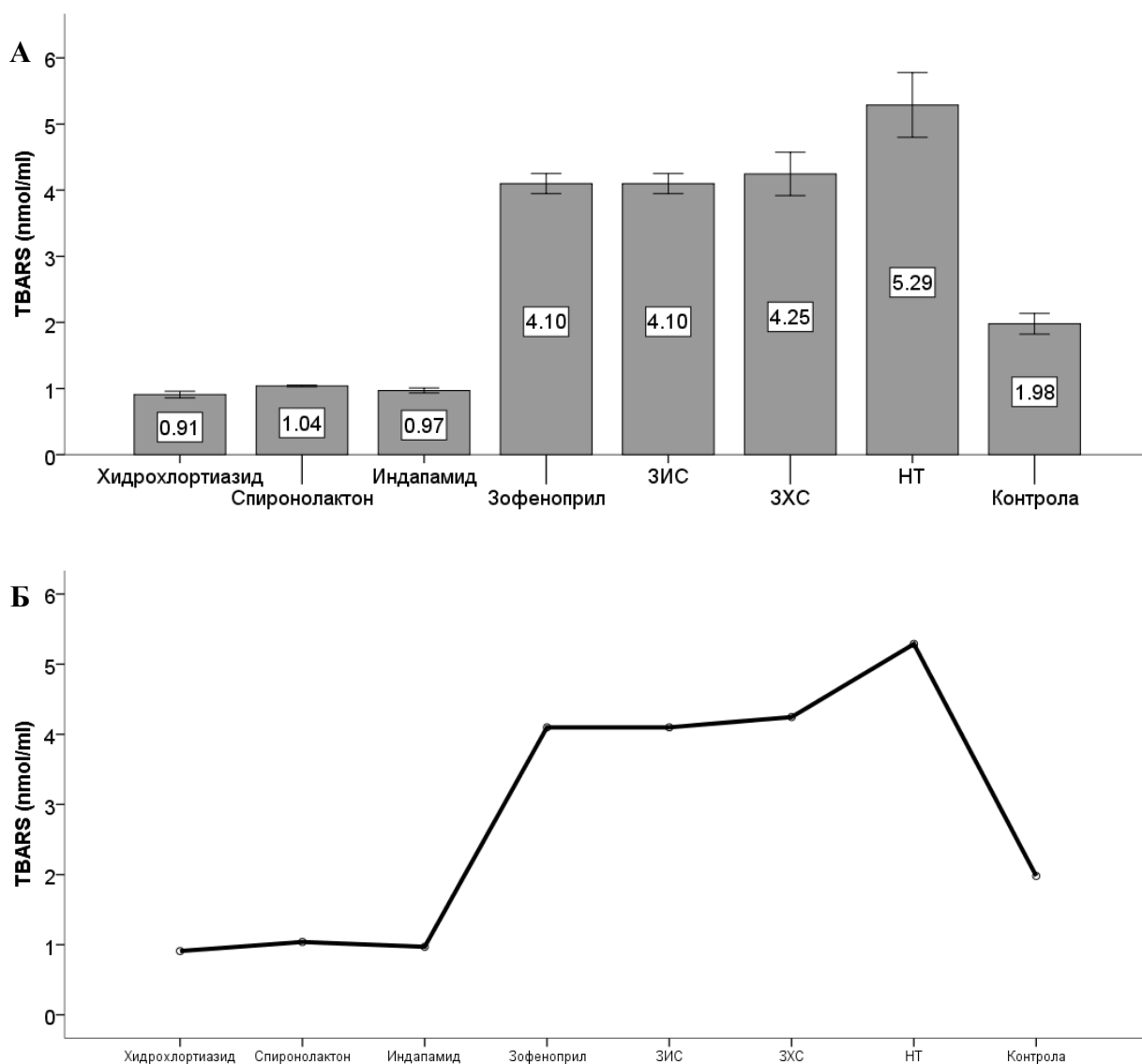


График 14. Средња вредност TBARS у плазми нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност \pm SD. Б) подаци су представљени као медијана \pm SD.

4.5.5. Супероксид дисмутаза (SOD)

Највећа активност ензима SOD је забележена у групама третираним дуретицима, (хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом) и она је била компарабилна са активношћу SOD у групама нетретираних нормотензивних и хипертензивних пацова. Највеће снижење активности SOD је забележено у групама третираним АЦЕ-инхибитором – зофеноприлом, самостално или у комбинацији – ЗХС и ЗИС (**График 14А**). Значајно су веће вредности SOD код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом ($M=32,56$) у односу на групе које су користиле зофеноприл и комбинације ЗИС и ЗХС ($p<0,05$; $M=16,28$) (**График 14Б**).

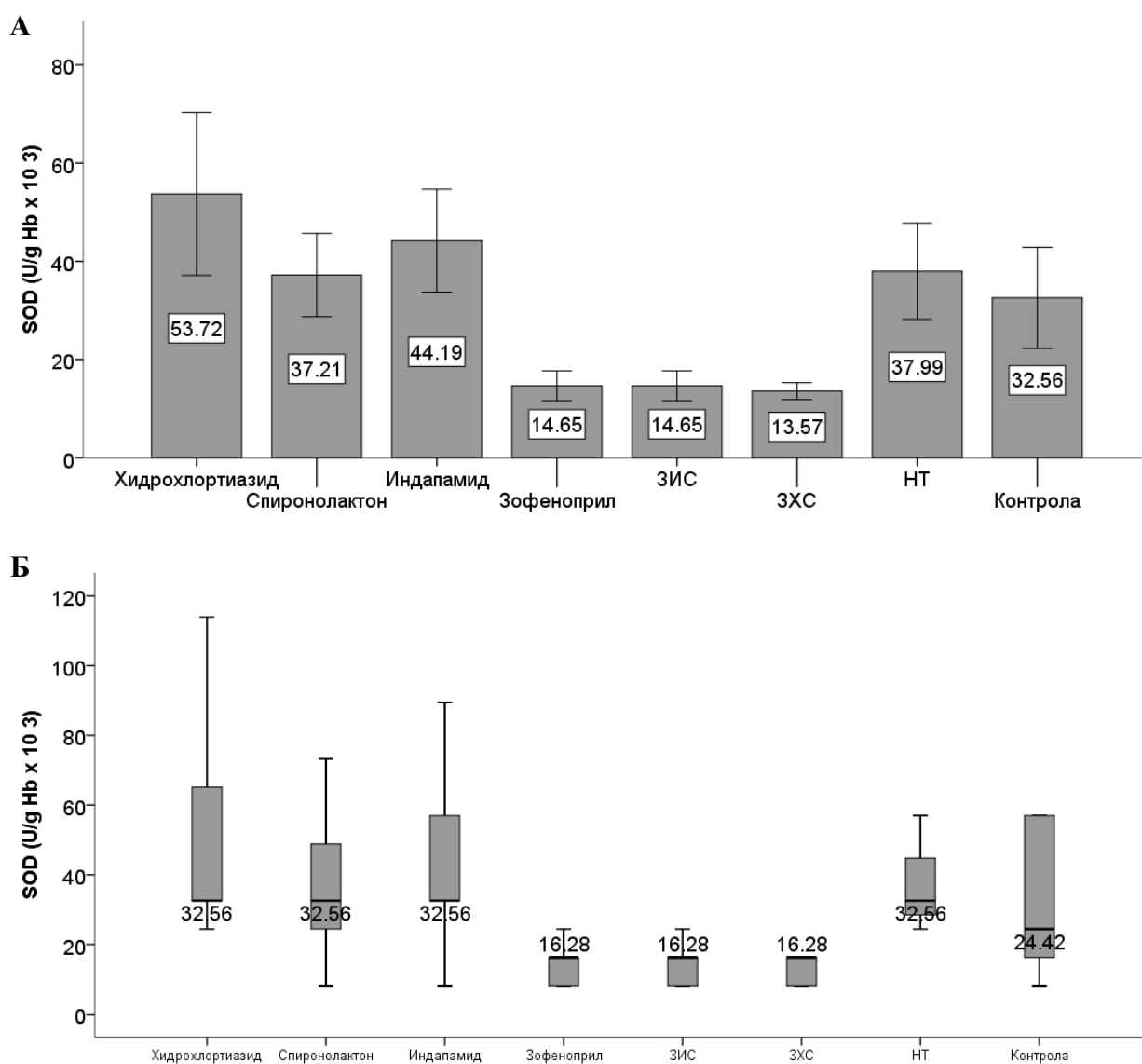


График 15. Средња вредност активности супероксид дисмутазе у лизату еритроцита нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност ± SD. Б) подаци су представљени као медијана ± SD.

4.5.6. Каталаза (CAT)

Примена диуретика и АЦЕ-инхибитора није значајно утицала на активност каталазе, ни самостално, ни у комбинацији (**График 14**).

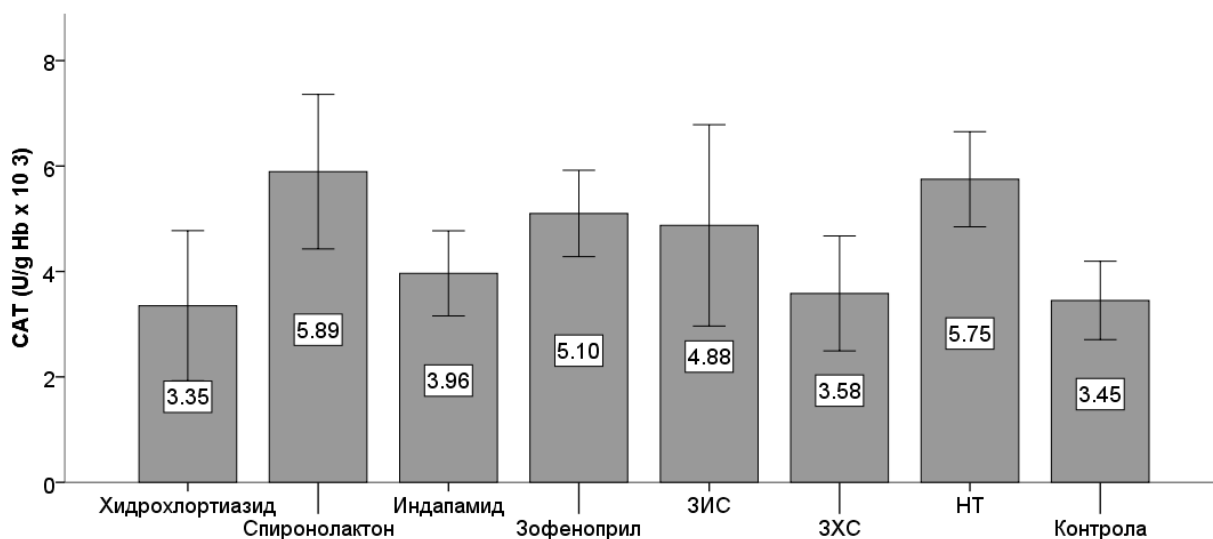


График 16. Средња вредност активности каталазе у лизату еритроцита нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност \pm SD. Б) подаци су представљени као медијана \pm SD.

4.5.7. Глутатион (GSH)

Примена диретика је довела до значајне потрошње редукованог глутатиона. Највише вредности GSH су забележене у групама третираним АЦЕ-инхибитором – зофеноприлом, самостално или у комбинацији – ЗХС и ЗИС и те вредности су биле приближне онима у нормотензивној групи, док је спонтанохипертензивна контрола имала нешто нижи ниво GSH (**График 17А**).

Постоји статистички значајна разлика између вредности GSH код контролне групе (M=43632) и свих осталих група ($p < 0,05$; M=25111-57467), при чему су вредности GSH значјно веће код контролне групе у односу на хидрохлортиазид, спиронолактон и индапамид, док су мање у односу на зофеноприл, као и комбинације ЗХС и ЗИС.

Постоји статистички значајна разлика између вредности GSH код нормотензивне контролне групе (M=54904) и група које су третиране хидрохлортиазидом ($p=0,000$; M=30431), спиронолактоном ($p=0,000$; M=27262) и индапамидом ($p=0,000$; M=25111), при чему су вредности GSH значајно веће код спонтанохипертензивне контролне групе.

Значајно су мање вредности GSH код група које су третиране хидрохлортиазидом, спиронолактоном и индапамидом (M=25111-30431) у односу на групе које су користиле зофеноприл ($p=0,000$; M=56766) и комбинације ЗИС ($p=0,000$; M=57467) и ЗХС ($p=0,000$; M=49914) (**График 17В**).

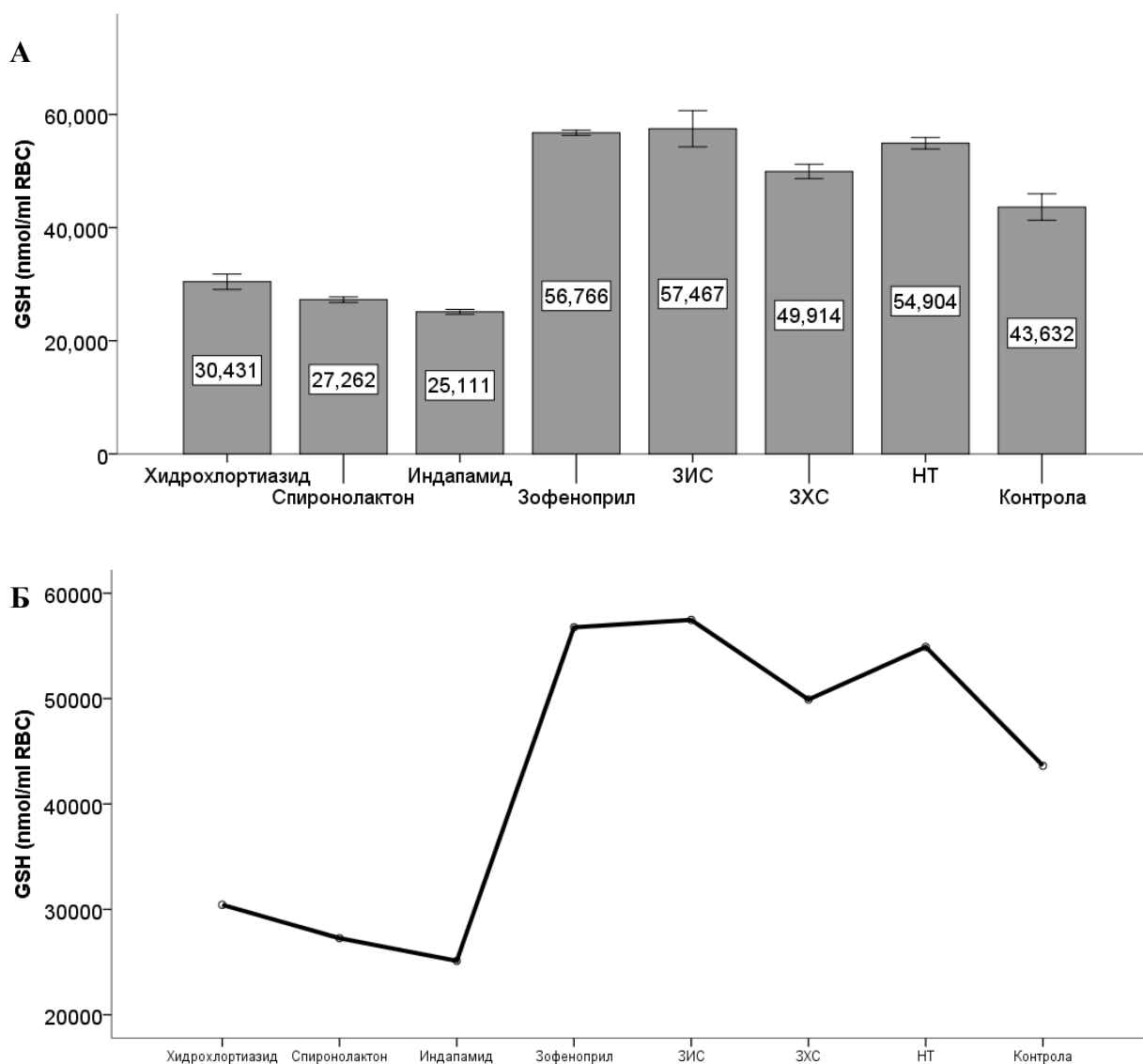


График 17. Средња вредност глутатиона у лизату еритроцита нетретираних нормотензивних пацова и спонтанохипертензивних пацова након четворонедељног третирања антихипертензивним агенсима. А) подаци су представљени као средња вредност \pm SD. Б) подаци су представљени као медијана \pm SD.

4.6. Патохистолошка анализа ткива срца и бубрега спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима

Код нормотензивних пацова види се регуларан распоред мишићних влакана без присуства хипертрофије и таласастих влакана, дегенеративних променама, хиперцелуларности строме и едема интерстицијума.

Код спонтанохипертензивних пацова види се хипертрофија мишићних влакана, таласастих влакана, хиперцелуларност и едем интерстицијума.

Код животиња које су третиране хидрохлортиазидом, уочава се хипертрофија влакана и ретка таласаста мишићна влакна, слаба хиперцелуларност и ретка затупаста једра.

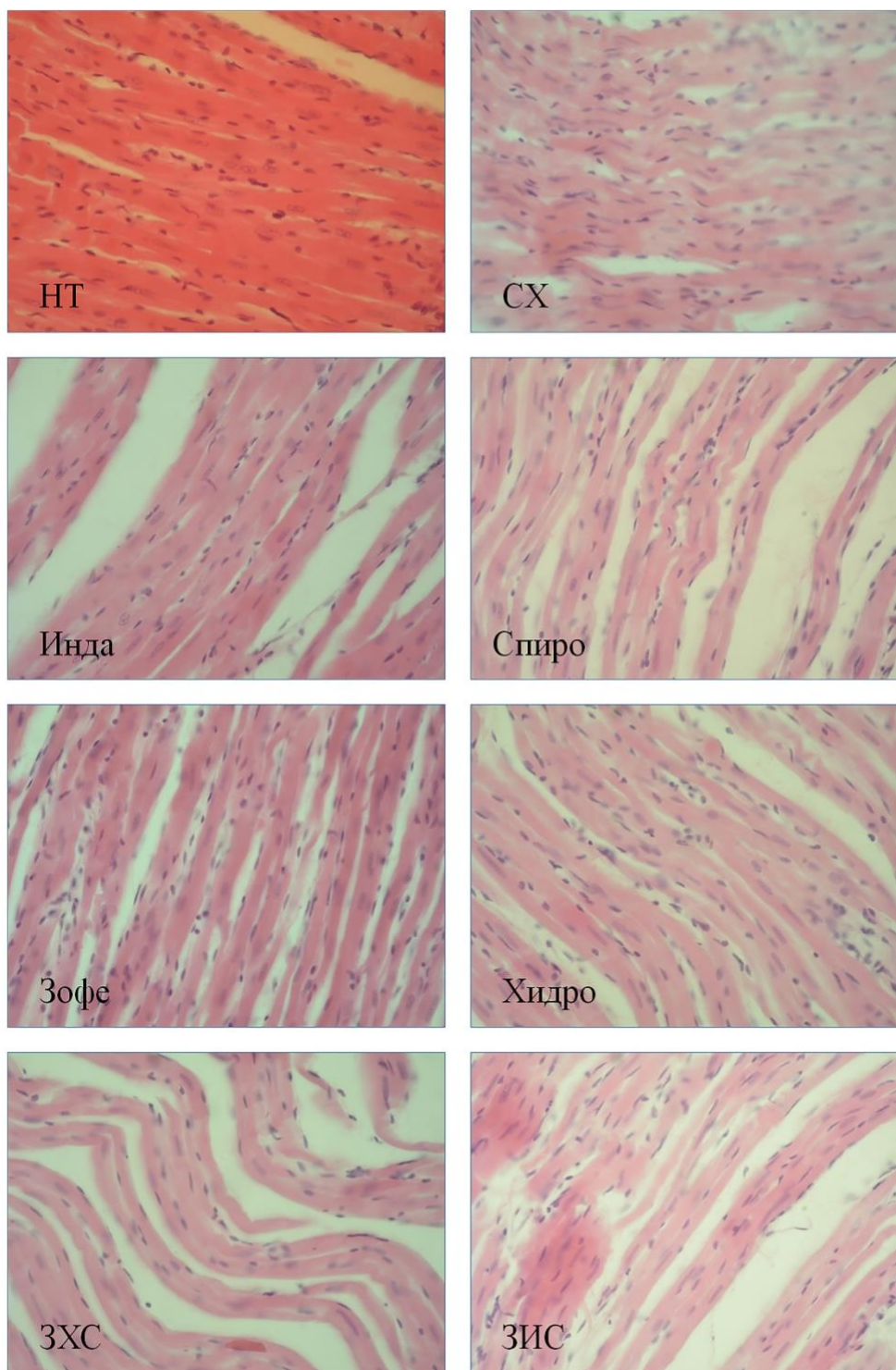
Код животиња које су третиране индапамидом, уочава се хипертрофија мишићних влакана, без присуства таласастих влакана. Присутан је едем интерстицијума и затупаста једра.

Код животиња које су третиране спиронолактоном присутна је слабије изражена хипертрофија мишићних влакана, и ретка таласаста влакана и едем интерстицијума. Присутна су издужена једра као и ретка затупаста једра.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, присутна је хипертрофија мишићних влакана, едем интерстицијума, затупаста једра и блага хиперцелуларност.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, хидрохлортиазидом и спиронолактоном (ЗХС) уочава се слабије изражена хипертрофија мишићних влакана, таласаста влакна, едем интерстицијума и издужена једра.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, индапамидом и спиронолактоном (ЗИС) присутна је слабије изражена хипертрофија мишићних влакана, едем интерстицијума, хиперцелуларност (**Слика 7**).



Слика 7. Ткивни пресек срца нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова третираних антихипертензивним агенсима. НТ – нормотензивни, СХ – спонтанохипертензивни, Хидро – хидрохлортиазид, Спиро – спиронолактон, Инда индапамид, Зофе – зофеноприл, ЗИС - зофеноприл, индапамид и спиронолактон, ЗХС - Зофеноприл, хидрохлортиазид и спиронолактон.

Код нормотензивне групе пацова, морфолошка грађа бубрега је очувана и без присуства морфолошких промена. Нефрони су очуване грађе, гломерули су очуване грађе без присуства атрофије и без проширеног уринарног простора. У епителу тубула не уочавају се видљиве промена, као ни десквamacија епитела.

Код спонтанохипертензивне групе нетретираних пацова присутна је атрофија гломерура са проширеним уринарним простором. Тубули нефрна су очуване грађе, али је у сабирним тубулима присутна десквamacија епитела.

Код животиња које третиране хидрохлортиазидом, не уочава се атрофија гломерула, уринарни простори нису проширени али је присутна дискретна десквamacија епитела тубула.

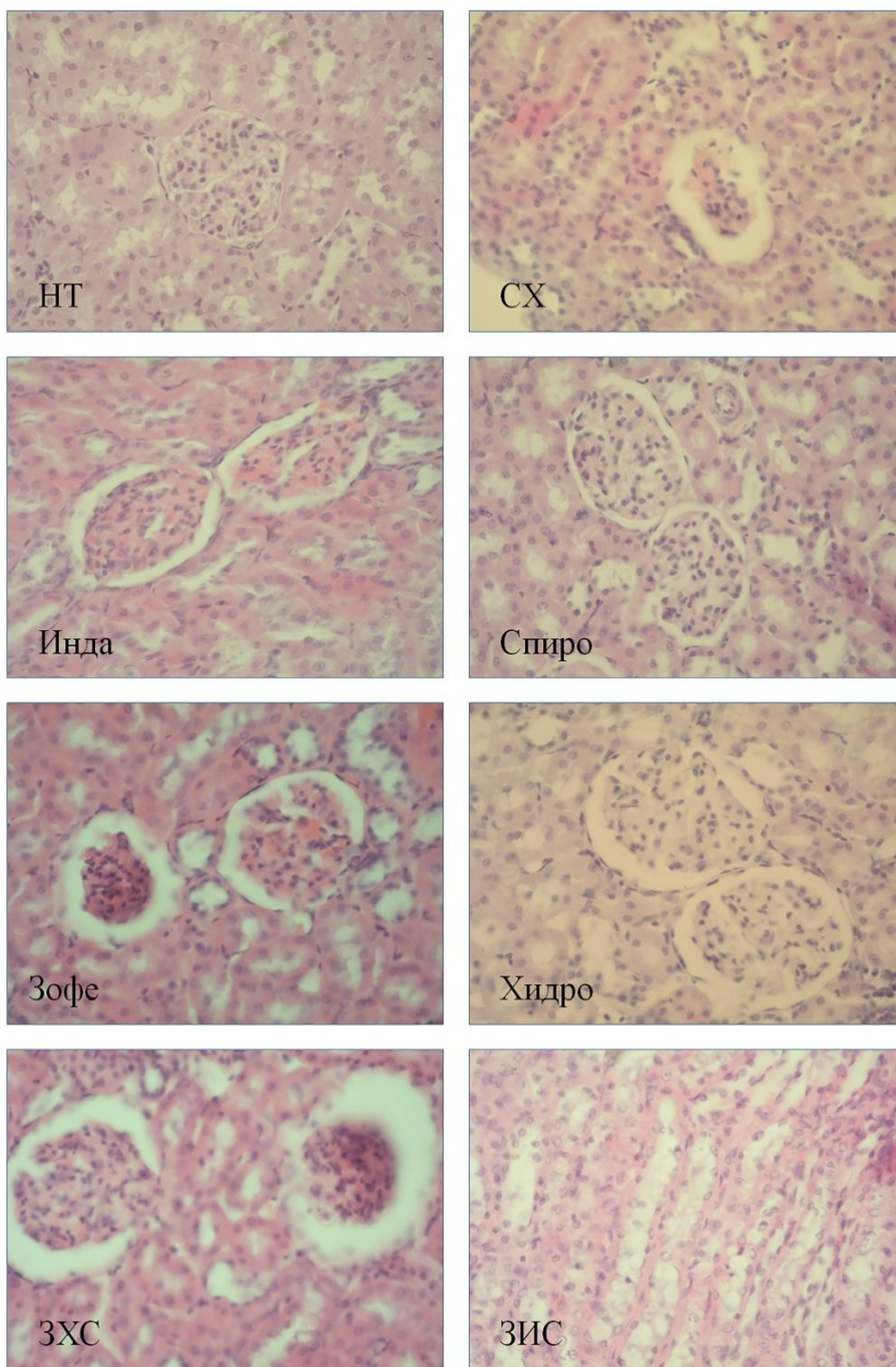
Код животиња које су третиране индапамидом, уочавају се ретке промене у грађи гломерула (ретки атрофични гломерули) али је изражена десквamacија епитела тубула.

Код животиња које су третиране спиронолактоном не уочава се атрофија гломерула док се у тубулима уочава ретка десквamacија епитела.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, присутна је атрофија појединачних гломерула (ретка), проширен уринарни простор и десквamacија епитела тубула.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, хидрохлортиазидом и споронолактоном (ЗХС) уочава се изражена атрофија гломерула са проширеним уринарним простором и десквamacијом епитела.

Код животиња које су третиране зофеноприлом, индапамидом и споронолактоном (ЗИС) присутна је атрофија гломерула са деструкцијом појединачних гломерула, израженом десквamacијом епитела тубула и проширеним уринарним просторима (**Слика 8**).



Слика 8. Ткивни пресек бубрега нормотензивних и спонтанохипертензивних пацова третираних антихипетензивним агенсима. НТ – нормотензивни, СХ – спонтанохипертензивни, Хидро – хидрохлортиазид, Спиро – спиронолактон, Инда индапамид, Зофе – зофеноприл, ЗИС - зофеноприл, индапамид и спиронолактон, ЗХС - Зофеноприл, хидрохлортиазид и спиронолактон.

V

ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Артеријска хипертензија представља главни узрок кардиоваскуларних болести у свету, доводећи до оштећења органа као што су срце, бубрези и крвни судови. Бројне студије су покзале да је хипертензија један од најчешћих фактора ризика за развој акутног инфаркта миокарда. Хипертензија активира симпатички нервни систем, систем РААС и доводи до последичног истезања и повећања дијаметра леве коморе, структуралног ремоделовања коморе који за последицу имају развој коморских аритмија и доводи до изненадне срчане смрти хипертензивних пацијената. Хипертензија појачава системску инфламацију, убрзава развој коронарне ендотелне дисфункције, подиже ниво оксидационог стреса и смањује активност протеин киназе G, доводећи до повећане миокардне крутости и ремоделовања кардиомиоцита и развоја миокардне фиброзе (Kucmierz et al., 2021).

5.1. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на вредности крвног притиска спонтанохипертензивних пацова

Диуретици и АЦЕ-инхибитори се користе и појединачно и у комбинацији са другим лековима за лечење хипертензије. Тиазидни диуретици (хидрохлоротиазид) и тиазидима слични диуретици (индапамид) се достављају до тубуларног лумена путем секреторног пута органске киселине, где стижу до места деловања. Већина диуретика у почетку делује тако што спречава реадсорпцију натријума на различитим местима у бубрежним тубулима. Тиазиди смањују периферни отпор непознатим механизмом, снижавајући крвни притисак. Тиазиди у почетку смањују екстрацелуларни волумен и минутни волумен срца, али током неколико недеља до месеци, екстрацелуларни волумен се постепено враћа на скоро нормалан ниво (Roush et al., 2014), што објашњава минимално смањење крвног притиска у нашем истраживању. Могуће објашњење не приметног пада крвног притиска је кратак период терапије, а за будућа истраживања треба узети у обзир повећање дозе и дужину терапије (Табела 3).

Као главни разлози употребе диуретика у циљу снижавања повишених вредности крвног притиска наводе се препознавање ефикасности нижих доза чиме се смањују нежељени ефекти, укључујући и негативне метаболичке ефекте, као и супериорност у превенцији секундарних кардиоваскуларних догађаја који укључују морталитет, мождани удар и друге кардиоваскуларне болести у односу на друге антихипертензивне лекове (Shah et al., 2004).

Тиазиди и тиазидима слични диуретици су важна група лекова који се користе у лечењу артеријске хипертензије. Откривени су 50-их година XX века и представљају главни ослонац лечењу хипертензије. Иако је очигледан њихов благотворни терапеутски ефекат у монотерапији, они се све више користе у фиксним комбинацијама, посебно са АЦЕ-инхибиторима или сартанима. Најчешће коришћен тиазидни диуретик у терапији хипертензије је хидрохлоротиазид. Међутим бројне студије показале супериорност других лекова из ове групе, хлорталидона и индапамида. Студија поређења хидрохлоротиазидна у односу на индапамид и хлортиладон показала је јаче антихипертензивно дејство, дуже трајање, али и бољи безбедоносни профил диуретика сличних тиазидима (Tamargo et al., 2014).

Већина класа антихипертензивних лекова када се користи као иницијална терапија успорава прелазак са хипертензије на срчану инсуфицијенцију, иако нису сви подједнако ефикасни. Треба избегавати ниске дозе хидрохлоротиазидна једном дневно, али изгледа да дуго делујући диуретици слични тиазидима хлорталидон и индапамид

имају бенефит у односу на друге антихипертензивне фармације у превенцији срчане инсуфицијенције (*Messerli FH et al., 2017*). Индапамид је релативно слаб диуретик за који се показало да доводи до значајног и трајног смањења крвног притиска са мањом инциденцом озбиљне хипокалемије и хипергликемије и задржава ефикасност код пацијената са хроничном болешћу бубрега. Показало се да смањује хипертрофију леве коморе у већем степену него монотерапија еналаприлом или атенололом (*Dahlöf B et al., 2005*). Такође је ефикасан у смањењу микроалбуминурије код хипертензивних пацијената (*Puig JG et al., 2007*). Додатни механизми помоћу којих индапамид може да испољи своје антихипертензивне ефекте је да индукује повећање нивоа простаглицина, метаболита арахидонске киселине (АА) добијеног из циклооксигеназе, у васкуларним глатким мишићним ћелијама. Ово повећава могућност да и други метаболити АА могу играти улогу у антихипертензивним ефектима индапамида. Поред циклооксигеназа, АА се може метаболирати ензимима суперфамилије цитохрома Р450 (Р450). Р450 епоксигеназе стварају 5,6-, 8,9-, 11,12- и 14,15-епоксиенкозатриенске киселине (ЕЕТ), које се даље метаболишу у одговарајуће мање активне дихидроксиенкозатриенске киселине (DHET) помоћу растворљиве епоксидне хидролазе. Р450 ω -хидроксилазе производе 20-хидроксиенкозатетраенску киселину (20-HEET). И ЕЕТ и 20-HEET су укључени у регулацију васкуларне функције (*Zhao X and Imig JD, 2003*). У микроциркулацији бубрега, 20-HEET подстиче вазоконстрикцију блокарањем велике проводљивости Ca^{2+} -активираних K^+ канала (*Imig JD et al., 1996*) и стимулацијом L-тип Ca^{2+} канала (*Miyata N and Roman RJ, 2005*), који доприносе повећању крвног притиска. С друге стране, ЕЕТ, који су идентификовани као хиперполаризујући фактори изведени из ендотела, промовишу вазодилатацију у прегломеруларним артериолама путем активације Ca^{2+} -активираних K^+ канала глатких мишићних ћелија бубрега, што доводи до хиперполаризације васкуларних глатких мишићних ћелија и смањења крвног притиска. ЕЕТ такође значајно повећавају производњу атријалног натриуретичког пептида у срцу, што доприноси вазодилатацији и натриуретским ефектима. Вазодилаторна својства ЕЕТ су добро окарактерисана на многим животињским моделима (*Ma F et al., 2013*).

У истраживају које су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*) примена индапамида или хидрохлортиазида током 8 недеља није имала утицај на крвни притисак нормотензивних *Wistar-Kyoto* пацова, међутим, третман спонтанохипертензивних пацова било којим од ових лекова смањило је крвни притисак за 15-16 mmHg, у поређењу са контролама које су третиране сланим раствором. Поменути резултати су у корелацији са нашим резултатима, с обзиром на то да и у нашој студији није дошло до промене крвног притиска код нормотензивних пацова, а да су индапамид и хидрохлортиазид постигли снижење систолног крвног притиска за 7 mmHg и дијастолног за 2-4 mmHg, али за дупло краћи период, тј. за свега 4 недеље (**Табела 3**).

Као што знамо регулација крвног притиска је сложен процес, у ком значајну улогу има алдостерон, лиганд минералокортикоидног рецептора (MR), који игра кључну улогу у контроли крвног притиска и апсорпцији натријума активирањем MR у дисталним нефронима. Али постоје бројна ткива у којима је MR експримиран, изван бубрега, где би његово активирање могло да изазове оштећење ткива. У ствари, показало се да активирање MR у кардиоваскуларном систему промовише инфламацију, фиброзу и хипертензију. Неколико анималних модела кардиоваскуларних болести има користи од фармаколошке блокаде MR, стога пацијенти са срчаном инсуфицијенцијом имају користи од употребе антагониста MR јер смањују морталитет и морбидитет. Антагонисти алдостерона делују на нивоу примарних ћелија кортикалног сабирног канала до којих стижу путем крвотока. Базолатерална Na^+/K^+ пумпа и епителни Na^+ канал осетљив на алдостерон (ENaC) се регулишу у цитоплазми главних ћелија блокатором

рецептора алдостерона. Крајњи резултат је смањење лучења H^+ и K^+ које би се иначе десило као резултат померања напона преко мембране, заједно са смањеном реапсорпцијом Na^+ (Roush et al., 2014).

Кључна промена у терапији артеријске хипертензије је употреба спиронолактона, тачније употреба малих доза спиронолактона (25- 50 mg) у резистентној хипертензији као додатак постојећој терапији и употреба спиронолактона код пацијента са есенцијалном хипертензијом где он може бити наш први избор. Наравно треба узети у обзир ограничења за примену спиронолактона, а то су пацијенти са гломерулском филтрацијом изнад 45 mmol/min и код којих ниво K није већи од 4,5 mmol. У препорукама се чак наводи и да када су вредности K више нпр. 5,1 mmol не уводимо спиронолактон, или искључујемо нешто од лекова који могу повећати K па уводимо спиронолактон или ако је већ на спиронолактону не идемо са повећавањем дозе. Хиперкалијемија је нешто о чему најчешће размишљамо али много пута она може бити узрокована другим разлозима. Или је то неадекватан унос течности или неадекватно придржавање терапији или дехдратација али врло ретко је забележена хиперкалијемија код употребе малих доза спиронолактона. Мноштво публикација и великих студија показало је да је спиронолактон супериорнији у односу на хидрохлортиазиад у контроли крвног притиска, а да истовремено показује за пацијенте који имају срчану инсуфицијенцију знатну редукацију морталитета у односу на оне пацијенте који се лече АЦЕ инхибиторима. Велика студија урађена је на групи пацијената који су користили спиронолактон. Доказано да алдостерон утиче на губитак Mg и других електролита да утиче на пораст симпатичке активације и инхибицију парасимпатичке активности, да утиче на стимулацију миокардне фиброзе што све скупа резултује тахикардијом, фибрилацијом, променама у QT интервалу, већом инциденцом вентрикулских аритмија и срчаном слабашћу. То значи да употребом овог блокатора постижемо супротне ефекте од наведених и отварамо могућност за нова индикациона подручја (Doumas M et al., 2020).

У Ланцету је већ публиковано да спиронолактон од свих антихипертензивних лекова даје убедљиво најбоље ефекте на морбидитет, морталитет и редукацију крвног притиска у поређењу са свим другим расположивим лековима. Постоји још једна студија која је показала значајно снижење притиска код пацијената и са примарним хипералдостеронизмом и са нормалним вредностима алдостерона. Такође нова студија из 2015. године која је спиронолактон винула у сам врх најмоћнијих антихипертензива је поредила његове ефекте у односу на друге лекове који се могу дати код резистентне хипертензије као што су доксозосин и бисопролол и ефекти овог лека показала су његову предност (Williams B et al., 2015).

Строга контрола крвног притиска је једна од најбољих стратегија за превенцију инфаркт миокарда. Међутим, тешко је снизити крвни притисак код пацијената са високим ризиком у смислу 24-часовне контроле крвног притиска. Повећање дозе антихипертензивних лекова или комбинована терапија су ефикасне методе за добијање добре контроле у таквим стањима, с тим да је комбинован терапија уопште ефикаснија опција у овим случајевима. Многим пацијенти са есенцијалном хипертензијом је потребно два или више лекова који имају комплементарни механизам деловања. Очекује се да оваква стратегија оптимизује контролу крвног притиска уз минимизирање учесталости нежељених догађаја (Node K, 2009).

С обзиром на познате различите механизме дејства диуретика и АЦЕ-инхибитора и њихову међусобну синергију у дејству, хипотеза да ће комбиновани третман зофеноприлом и диуретицима постићи веће снижење крвног притиска, се испоставила као тачна. Ако погледамо резултате мерења крвног притиска на почетку експеримента и након 4 недеље третмана са 10 mg/kg испитиваних антихипертензивних лекова, видимо

да је монотерапија зофеноприлом постигла снижење систолног крвног притиска за ~ 6 mmHg и дијастолног за ~ 2 mmHg, док је у комбинацији са хидрохлортиазидом и спиронолактоном довео до снижења $\sim 32/8$ mmHg или индапамидом и спиронолактоном $\sim 35/8$ mmHg (Табела 3).

5.2. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на функцију и структуру срца пацова

Доказано је да висок крвни притисак доводи до значајног ремоделовања срца, укључујући хипертрофију, интерстицијалну фиброзу и осетљивост миокарда на И/Р повреду. Још једна значајна промена уочена је код хипертензивних пацијената, а то је последично ремоделовање срчаног ткива настало као последица нагомилавања фиброзног ткива. Услед развоја фиброзе и нагомилавања колагена у миоцитима може доћи до развоја срчане инсуфицијенције и последичног инфаркта миокарда. Увођење спиронолактона у терапију хипертензије било је повезано са смањењем биомаркера синтезе колагена што потенцијално може бити предуслов за одлагање прогресије кардиваскуларног оштећења миокарда и показати повољне ефекте на структуру и функцију срца (*Hargovan et al., 2014*).

У ранијим студијама показано је да индапамид смањује кардиваскуларне догађаје, али нема доказа да хидрохлортиазид има утицаја на кардиваскуларне догађаје и не постоје рандомизована контролисана испитивања која директно упоређују утицаје тиазидних диуретика или диуретика који штеде калијум (спиронолактон) у односу на кардиваскуларне исходе као што је исхемијско реперфузиона повреда, коју карактерише погоршање ћелијске деструкције и дисфункција након поновног успостављања протока крви у исхемично ткиво (*McNally et al., 2019*). Студије су показале да индапамид смањује кардиваскуларни морбидитет и морталитет. Међутим, не постоје докази који подржавају тврдњу да хидрохлортиазид има било какве позитивне користи на кардиваскуларне исходе (*Asil et al., 2017*), а резултати нашег истраживања су у корелацији са наведеним резултатима. Процена срчане функције помоћу ехокардиограма показала је да третмани индапамидом, зофеноприлом и комбинованим третманима (ЗХС и ЗИС) смањују IVSd, LVIDd, PwD, LVIDs, PWS, док су FS и EF повећани у односу на контролну групу, смањујући хипертрофију леве коморе и значајно побољшавајући срчану функцију као резултат (Табела 4). Овакав ефекат комбинованог третмана на срчану функцију је очекиван, с обзиром на постигнуте значајне ефекте у снижењу крвног притиска код одраслих мушјака спонтанохипертензивних пацова.

У студији који су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*), мерење срчане функције ехокардиографијом показало је да су EF и FS повећани код спонтанохипертензивних пацова третираних индапамидом у поређењу са поређењу са нетретираним спонтанохипертензивним пацовима, али не и поређењу са спонтанохипертензивним пацовима третираних хидрохлортиазидом. Наши резултати су једним делом у сагласности са њиховим, с обзиром на то да ни у нашој студији третирање хидрохлортиазидом спонтанохипертензивних пацова није довело до побољшања EF и FS, а да је третман индапамидом значајно повећао EF. Опет, морамо узети у обзир и разлике у дужини третирања, јер је у поменутој студији дужина третмана износила 8 недеља, а у нашем истраживању само 4 недеље. Али када су индапамид и хидрохлортиазид примењени у комбинацији са још два лека (зофеноприлом и спиронолактоном), за само 4 недеље доводе до побољшања EF и FS (Табела 4).

Као што је већ речено, хипертрофија срца је честа компликација хроничне хипертензије и делимично је узрокована аберантним нагомилавањем компоненти

екстрацелуларног матрикса у екстрацелуларном простору. Фиброза чини миокард ригидним, што може довести до срчане инсуфицијенције и вентрикуларне дисфункције, а употреба МР антагониста спречава фиброзу срца чак и када не постиже антихипертензивни ефекат (*Travers et al., 2016; Buonafine et al., 2018*). У нашем истраживању, спиронолактон који је примењиван у дози од 10 mg/kg, *per os*, у периоду од четири недље довео је до смањења вредности IVSd, LVIDd, PWd, IVSs, LVIDs и PWs, што указује на постигнути антихипертрофични ефекат, али без значајног повећања у ејекционе функцији.

Иначе је доказано да нивои алдостерона у плазми имају тенденцију да расту са трајањем лечења АЦЕ инхибитором (познато као бекство алдостерона) (*Sato A et al., 2000*), и да излазак алдостерона може да преокрене корисне ефекте АЦЕ инхибиције на хипертрофију леве коморе код пацијената са есенцијалном хипертензијом (*Sato A and Saruta T, 2001.*). Такође је доказано да додавање спиронолактона третману АЦЕ инхибитором може имати корисне ефекте, што се може објаснити барем делимично ограничењем екстрацелуларног колагена на хипертрофију леве коморе код одабраних пацијената са есенцијалном хипертензијом (*Sato A et al., 2001; Sato A et al., 1999*). Ове студије сугеришу да третман АЦЕ инхибитором није адекватан за сузбијање алдостерона, док би комбиновано лечење АЦЕ инхибитором и спиронолактоном могло пружити додатне предности у превенцији срчане хипертрофије, срчане фиброзе или обоје, чак и код одабраних пацијената са есенцијалном хипертензијом.

Дијастолна дисфункција је уобичајена абнормалност код благе до умерене хипертензије и често се виђа у присуству хипертрофије леве коморе. Показало се да дуготрајно лечење хипертензије побољшава дијастолну функцију (*Fouad-Tarazi FM, 1994*). Међутим, сматра се да је структурна адаптација леве коморе код хипертензије модификована не само преоптерећењем притиском већ и хуморалним факторима. Интерстицијска фиброза у срцу такође може утицати на дијастолну функцију; из тог разлога, сматра се да спиронолактон ефикасније побољшава дијастолну дисфункцију него третман самим АЦЕ инхибитором. У студији (*Sato A et al., 2002*), однос брзине пуњења раног врхунца и атријалног врхунца се побољшао и у групи третираној самостално АЦЕ инхибитором и у групи третираној АЦЕ инхибитором и спиронолактоном у сличној мери, што сугерише да је снижавање крвног притиска јача детерминанта побољшања дијастолне дисфункције од нивоа алдостерона у плазми. Ипак, с обзиром на тешку срчану фиброзу уочену у експерименталном моделу алдостерона са вишком соли, још увек постоји могућност да алдостерон игра улогу у дијастолној функцији, независно од крвног притиска, код пацијената са есенцијалном хипертензијом.

За процену контрактилности миокарда, као индиректна мера инотропних карактеристика срца, коришћен је $dp/dt \max$, а $dp/dt \min$ је коришћен да се процени брзина релаксације срца. Нормотензивни пацови су имали најниже вредности $dp/dt \max$ што је физиолошки очекивано, јер миокард хипертензивних пацова захтева јачу контрактилност пошто пумпа крв на супрот повишеном притиску (**График 1**). Код свих група третираних антихипертензивним лековима вредности су биле у физиолошком, или рангу који није сметао да се оштети контрактилност миокарда, али је највеће повећање постигнуто у групи пацова третираних индапамидом. Највише апсолутне вредности $dp/dt \min$ забележене су у групи нормотензивних пацова и групи третираној индапамидом (**График 2**). На основу коронарног протока и кардиодинамских варијабли спонтанохипертензивних пацова третираних индапамидом, мерених *ex vivo* након 20 минута исхемије праћене 30 минута реперфузије, можемо закључити да индапамид побољшава функцију срца омогућајући срцу највећу контрактилност и релаксантност током реперфузије. Вредности SLVP су значајно снижене у свим групама третираних животиња у периоду стабилизације у односу на контролу, док је у једино индапамид у 30.

минуто реперфузије показао значајно снижење SLVP у односу на контролу (**График 3**). Такође, статистички значајно снижење систолног притиска у левој комори у периоду реперфузије забележено је у свим третираним групама у поређењу са контролом, а највеће снижење у групама које су третиране спиронолактоном и комбинацијом са зофеноприлом. Наши резултати су у складу са резултатима које су објавили Ма и сарадници, чија је анализа срчане хемодинамике показала да је $dp/dt \max$ био повећан код спонтанохипертензивних пацова третираних индапамидом у поређењу са нетретираним спонтанохипертензивним пацовима (Ma F et al., 2013) у истој студији спроведено је мерење васкуларне функције помоћу прстенова артерија које је показало да се контракција као одговор на норепинефрин смањила, а дилатација као одговор на ацетилхолин повећала у аортним прстеновима из спонтанохипертензивних пацова третираних хидрохлортиазидом и индапамидом у поређењу са нетретираним спонтанохипертензивним пацовима.

Вредности DLVP показале су велике стандарне девијације. Због тога даље тумачење DLVP-а није од релевантности, а резултате које смо добили треба посматрати у светлу да није било значајнијих промена у поређењу међу групама, ни са нормотензивном, ни у контролној групи, али ни у групама које су третиране антихипертензивним лековима (**График 4**).

Реперфузију након инфаркта миокарда може пратити велики број вентрикуларних аритмија и убрзаних идиовентрикуларних ритмова који настају у првих 20 минута реперфузије. Студије су уочиле да реперфузија без аритмија резултирала мањим инфарктом без обзира на подручје инфаркта. Као главни разлог настанка аритмија наводи се накнадна деполаризација, узрокована интрацелуларним преоптерећењем калцијумом, и појачаним ослобађањем калцијума из саркоплазматског ретикулума (van der Weg K et al., 2019). У случају срчане фреквенце нормотезивни пацови су имали највећу фреквенцу, док групе које су биле третиране антихипертензивним агенсима имале су благо снижење у почетку реперфузије у свим третираним групама, али је при крају реперфузионог периода дошло је до изједначавања ових вредности у последњем мереном тренутку реперфузије са вредностима у периоду стабилизације (**График 5**). Највећи процентуални пад у последњем мереном тренутку реперфузију забележен је у групама третираним зофеноприлом и комбинацијом ЗИС што је у складу са претпоставком да реперфузија повећава интрацелуларно преоптерећење калцијумом активацијом система ренин ангиотензин алдостерон који покреће ослобађање ангиотензина II, који у комбинацији са катехоламинима индукују даље интрацелуларно ослобађање калцијума које је потиснуто инхибиторином ангиотензина (Yahiro E et al., 2003). Ово директно указује да је у свим групама дошло до функционалног опоравка миокарда након исхемијске повреде и да ни у једној групи није дошло до пораста вредности овог параметра у односу на период стабилизације што је значајно у кардиопротективном смислу имајући у виду чињеницу да инфаркт миокарда доводи до прогресивног ремоделовања комора и развоја срчане инсуфицијенције, а да је повећан број срчаних откуцаја препознат као главни фактор ризика за напредовање ремоделовања леве коморе у инфарку миокарда (Dedkov EI et al., 2015).

Коронарна циркулација је и жртва акутног инфаркта миокарда. Руптура епикардијалног атеросклеротског плака изазива коронарну оклузију и ова оклузија се мора уклонити да би се изазвала реперфузија. Међутим, исхемија и реперфузија изазивају оштећења не само у кардиомиоцитима већ и у коронарној циркулацији, укључујући микроемболизацију и ослобађање растворљивих фактора из узрока лезије, нарушавање интегритета ендотела са накнадним повећањем пермеабилности и формирања едема, активацију тромбоцита и леукоцита, прелазак са вазодилатације на вазоконстрикцију и на крају структурно оштећење капилара са евентуалним

неповратним протоком, микроваскуларном опструкцијом (МВО) и интрамиокардијалном хеморагијом (ИМХ). Коронарна циркулација је важно место за кардиопротекцију, поред заштите кардиомиоцита (*Hausenloy DJ et al., 2019*). Коронарна оклузија са или без реперфузије изазива инфаркт миокарда уколико се коронарни проток не обнови у року од 20-40 минута. Али експерименти на моделу животиња показали су да реперфузија подстиче прекомерну производњу ROS, али и да се смањење величине инфаркта постиже благом реперфузијом, спорим враћањем коронарног протока на почетну вредност. Прилив крви у исхемично ткиво доводи до реперфузионе повреде, прекомерним стварањем ROS из молекуларног кисеоника и азот монооксида. Створени у ниским концентрацијама то су сигнални молекули укључени у метаболичке процесе, али створени у високим концентрацијама доводе до оштећења важних ћелијских молекула ДНК, липида, протеина. Микроваскулатура у кардиоваскуларном систему обложена је слојем ендотелних ћелија које су посебно осетљиве на ROS. Када су ткива подвргнута исхемији реперфузији ендотел крвних судова артерија, артериола, капилара, посткапиларних венула постаје нефункционалан и доводи до ослабљеног ослобађања вазодилатора зависног од ендотела и до појачаног одговора вазоконстриктора. Број капилара које су отворени за проток након реперфузије опада и све то доводи до слабе исхраћености миокарда. Са друге стране ROS произведене на сигналном нивоу поспешује постисхемијску ангиогенезу и подстиче кондиционирајућим стимулусима реакцију ткива на штетне ефекте исхемије и реперфузије (*Heusch G et al., 2012*).

Коронарни проток је редукован је у свим третираним групама у периоду реперфузије што је у складу са претходно наведеним закључцима. За разлику од рада радне мускулатуре код коронарне циркулације имали смо нешто другачије резултате међу групама (**График 6**). Између контролне и нормотензивне група није било разлике што указује да је и код хипертензивних пацова очувана коронарна реактивност, међутим када су се администрирали антихипертензивни лекови имали смо да је спиронолактон изазвао најслабију реперфузију миокарда, док су комбинације антихипертензивних лекова ЗИС и зофеноприл показале најбоље резултате. Што се тиче реперфузије миокарда у току реперфузије можемо рећи да је спиронолактон показао најслабији ефекат. Овакав резултат је у складу са претходним радовима у коме је показано да ангиотензин II и алдостерон повећавају притисак у левој комори и смањују коронарни проток у срцима пацова изложеним исхемији и реперфузији, али да је предтретман спиронолактоном побољшао притисак у левој комори, али да није смањио ефекте алдостерона на коронарни проток (*Chai W et al., 2005*).

5.3. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на оксидациони стрес код спонтанохипертензивних пацова

Све је више доказа који указују на значај оксидационог и нитрозативног стреса у патофизиолошкој манифестацији хипертензије. Како је стање хипертензије посредовано у великој мери циркулишућим хормонима ренин-ангиотензин-алдостерон система (РААС), који се појављују као одговор на смањену перфузију бубрега, интеракција између РААС ефекторских хормона и оксидативног стреса и патофизиолошког значаја реактивних врсте кисеоника и азота у хипертензији могу се сагледати са неколико тачака. Из кардиоваскуларне перспективе, H_2O_2 у ниским концентрацијама доприноси трансдукција сигнала укључених у регулацију вазомоторне реактивности, али који у високим концентрацијама може довести до дисфункција ендотела и преоптерећују антиоксидативну одбрану испољавајући цитотоксичност, што негативно утичу на преживљавање кардиомиоцита (Cai H, 2005). Док шира перспектива доноси спознају да је стање хипертензије, заправо стање измењеног редокс статуса на системском нивоу, које за последицу има „патњу“ и трошење различитих ткива, што све заједно доприноси прогресивној природи хипертензије (Sun Y et al., 2006).

У нашем истраживању вредности TBARS-а у коронарном венском ефлуету су биле највише у свим тачкама одређивања код спонтанохипертензивних пацова који нису третирану у односу на све остале групе (График 10), што корелира са податком који су Шифрин и сарадници су открили да код хипертензије постоји повећање TBARS-а у крви као директни показатељ оксидационог стреса (Iglarz M et al., 2004).

Реперфузиона повреда представља додатно погоршање ћелијске дисфункције настало као последица обнављања протока у претходно исхемичном ткиву. Иако је што раније обнављање протока у исхемичном ткиву важно за очување исхемичног ткива, реперфузија доводи до парадоксалног погоршања због повећане производње ROS. Повећана производња ROS највероватније настаје као последица смањене концентрације антиоксидативних агенаса у исхемичном ткиву. Исхемија са једне стране доводи до анаеробног метаболизма и поремећаја јонских канала, последичног нагомилавања јона H^+ , Na^+ , Ca^{2+} задржавања течности, а са друге стране реперфузија до развоја оксидативног стреса и последичног оштећења, некрозе и апоптозе ћелије (Cowled et al., 2011).

Сада када су механизми патогенезе И/Р повреде миокарда разјашњени, јасно је да оксидативни стрес игра значајну улогу (Mølgaard et al., 2016; Pagliaro et al., 2017). Повећан оксидативни стрес повезан је са повећаном производњом прооксиданаса супероксид анјона (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2) и смањеном синтезом азот монооксида (NO) и антиоксиданаса. Управо због тога истражује се утицај различитих фармаколошких агенаса који се примењују у терапији артеријске хипертензије и њихов утицај на равнотежу између прооксиданаса и антиоксиданаса. ROS имају значајну улогу у ендотелној дисфункцији, инфламацији, фибрози, васкуларном ремоделовању комора и хипертрофији миокарда. Клинички значај употребе диуретика у терапији хипертензије документован је од раније, било да се користе као монотерапија или у комбинацији са другим антихипертензивним лековима (нпр. АЦЕ-инхибиторима) (Dikalov et al., 2013; Touyz et al. 2004).

Студија спроведена на хуманој популацији уочила је повећане супероксид анјона у популацији пацијената са хипертензијом и претпоставила да ово повећање може бити повезано и са повећаним ризиком од кардиоваскуларних болести хипертензивних пацијената (Zuccarella-Hackl C et al., 2016). У физиолошким условима овај анјон се врло брзо посредством ензима супероксид дисмутазе претвара у водоник пероксид, а даље под дејством каталазе у кисеоник и воду. Велики број студија подржава улогу васкуларног

зида као главног извора реактивних врста кисеоника посредством активације NADPH оксидазе и ксантин оксидазе. Као додатни фактори који утичу на продукцију наводе се вазоактивни пептиди, међу којима је ангиотензин II. Повећање вредности овог анјон одражава се на смањење биорасположивости азотног оксида и простаглицина који су значајни за одржавање васкуларног тонуса (*Brito R et al., 2015*). Генерисање реактивних врста кисеоника према истраживањима има улогу и у оксидативном оштећењу након исхемије. Експеримент спроведен на хипертензивним пацовима потврдио је највише вредности супероксид анјон радикала код хипертензивних пацијената али у реперфузији нема значајних промена овог параметра у 30. минути у односу на период стабилизације у групи која је третрана антихипертензивима, али су вредности биле статистички значајно ниже код третираних у односу контролну групу. Највиши скок у реперфузији забележен је у контролној групи (**График 7**).

У студији коју су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*) анализа колагена у ћелијском зиду аорте показала је да третман индапамидом или хидрохлортиазидом смањује таложење колагена у интими-медији и ублажава оксидативни стрес, што је у корелацији са нашим резултатима међу којима се јасно види да монотерапија диуретицима (индапамидом, хидрохлортиазидом и спиринолактоном) значајно снижава ниво прооксиданаса како у коронарном венском ефлуенту, тако и у сисемској циркулацији. Тумачењем резултата који се односе на процену системског оксидационог стреса, на основу вредности O_2 можемо рећи да све монотерапије и комбиноване терапије делују антиоксидантно, а највише хидрохлортиазид, па потом и спиринолактон и индапамид (**График 11**). На основу вредности NO , H_2O_2 и TBRAS видимо да и даље монотерапија хидрохлортиазидом, спиринолактоном или индапамидом има антиоксидативно дејство, док зофеноприл као монотерапија и у комбинацији делује прооксидативно (**Графици 12-14**), што је у супротности са подацима из доступне литературе (*Ceron CS et al., 2010*). Проксидантно дејство зофеноприла администрираног било као монотерапија или у комбинацији се осликава и кроз повишене вредности индекса липидне пероксидације и снижену активност SOD (**Графици 14 и 15**), док је редукавани глутатион пак био повишен (**График 16**), предпостављамо као последња линија одбране у покушају да се савладају прооксидантни услови. Нема јасног објашњења због чега је комбинација АЦЕ-инхибитора и диуретика испољила неочекивано прооксидативно дејство, осим предпоставке да је то само транзитори адаптациони одговор организма. С обзиром да је терапија антихипертензивима била релативно кратка (свега 4 недеље), у циљу расветљавања прооксидатног механизма или пак његовог демантовања, потребна су и планирана додатна истраживања дужег временског интервала.

У истраживају које су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*) бубрежна ткива изолована из спонтанохипертензивних пацова су показала повећане нивое малондиалдехида (МДА), маркера оксидационог стреса и повишене нивое експресије две подјединице NADPH оксидазе (p47phox и p67phox), у поређењу са оним код нормотензивних *Wistar-Kyoto* пацова. Томе доприносе ензими подфамилије CYP2C који су главне P450 епоксигеназе у бубрезима. Конкретно, CYP2C23 је доминантни ензим који се експримира у бубрезима пацова и претвара AA у 8,9-ЕЕТ, 11,12-ЕЕТ и 14,15-ЕЕТ у односу 1:2:1. Штавише, CYP2C23 може повећати нивое хидрокси-ЕЕТ (HEЕТ) који су ендогени активатори рецептора активираних пролифератором пероксизома- α (енгл. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α* (PPAR- α)). PPAR- α активатори су такође високо експримирани у бубрезима и испољавају антиоксидативне и антиинфламаторне ефекте. Међутим, производња метаболита P450 у бубрезима је промењена код модела хипертензије глодара као што су спонтанохипертензивни пацови (*Yu Z et al., 2000*), што доприносе абнормалности у функцији бубрега код овог модела. У истој студији (*Ma F et*

al., 2013.) доказали су да третман спонтанохипертензивних пацова индапамидом или хидрохлортиазидом значајно смањује ниво МДА и спречио повећање експресије p47phox и p67phox. Такође, активност SOD-1 и SOD-2 је била смањена код спонтанохипертензивних пацова у поређењу са нормотензивним пацовима, али је значајно повећани након третмана хидрохлортиазидом, док је SOD-2 суптилно повећан третманом индапамидом. У нашем истраживању, хидрохлортиазид као и индапамид и спиронолактон дати као монотерапија су повећали активност SOD, док са друге стране нису значајно утицали на активност CAT, али су довели до деплеције редукованог глутатиона.

Иако су и хидрохлортиазид и индапамид постигли сличне антиоксидативне ефекте, кардиопротективни ефекти индапамида су били неупоредиво бољи. Постоји много разлога зашто треба дати предност терапији индапамидом у односу на хидрохлортиазид. У поређењу са хидрохлортиазидом, индапамид има повољније ефекте на кардиоваскуларни систем (*DiNicolantonio et al.*, 2015). Поред тога, према подацима из испитивања у Ослу, у поређењу са плацебом, хидрохлортиазид је повећао кардиоваскуларни морталитет (*Leren et al.*, 1986).

У физиолошким условима формирање NO је строго контролисано ензимским реакцијама катализованим синтазама азот оксида (NOS) које су присутне у три изоформе ендотелни (eNOS), индуцибилни (iNOS) и неуронски (nNOS) и његова концентracија је у оквиру ниских вредности у физиолошким условима (*Tenopoulou M et al.*, 2020). У реперфузији повећано је његово стварање и у условима повећаног стварања супероксид анјона међусобном реакцијом долази до формирања патогеног медијатора пероксинитрата који узрокује оксидацију протеина и липидну пероксидацију (*Radi R*, 2018). Наши резултати потврђују ову чињеницу јер је у свим групама осим код нормотензивне, забележено је редуковано стварање супероксид анјона који је вероватно утошен на формирање пероксинитрата са азот моноксидом који је такође у паду (**График 7**). Највеће процентуално снижење вредности NO у односу на период стабилизације показала је група нетретираних пацова и група третирана хидрохлортиазидом. У коронарном венском ефлуенту највеће вредности овог параметра су забележене су у групама које су третиране зофеноприлом самостално или у комбинацији. Инхибицијом ензима који конвертује ангиотензин (ACE), зофеноприл смањује стварање ангиотензина II и повећава нивое брадикинина, који стимулацијом ендотелних рецептора поспешује ослобађање NO, простаглицина и хиперполаришућег фактора ендотела и тиме доводи до последичне кардиопротекције. Такође, зофеноприл, ослобађањем водоник сулфида H₂S појачава антиоксидативну одбрану ткива и промовише активацију eNOS што додатно доводи до повећања нивоа NO (**График 8**) (*Donnarumma E et al.*, 2016). У нашем истраживању ове највише вредности NO-а су значајно веће код група спонтанохипертензивних пацова третираних зофеноприлом и комбинацијама у односу на групе третиране диуретицима. Ранија претклиничка истраживања су показала да допуњавање NO може бити од великог значаја за корекцију метаболичких болести попут хипертензије и метаболичког синдрома. Како у периоду реперфузије у овим контролним групама није дошло до пада вредности, а ни повећања продукције супероксид радикала, а истовремено је постигнуто повећање коронарног протока, претпостављамо да је он довео до ендотел зависне дилатације и повећаног отпуштања вазодилататорних супстанци и побољшане регулације хипертензије без штетног утицаја у смислу настанка оксидативног стреса у периоду реперфузије.

Резултати показују да је и у периоду стабилизације и периоду реперфузије највеће стварање водоник пероксида забележено у групи нормотензивних пацова (**График 9**). Код спонтанохипертензивних пацова водоник пероксид се мање ослобађа у свим тачкама реперфузије. Вероватно код спонтанохипертензивних група постоје компензаторни

механизми продуковани ћелијским стресом који подстиче производњу антиоксидативних компоненти које доводе до „хватања“, H_2O_2 од стране антиоксиданаса. Наши резултати показују да је у групи спонтанохипертензивних пацова који су третирани спиронолактоном у периоду реперфузије дошло до смањење супероксид анјон радикала и водоник пероксида, као и да је у истој групи забележен најзначајнији пад вредности индекса липидне пероксидације мерен као TBARS у реперфузији у односу на период стабилизације што доводи до претпоставке да је липидна пероксидација у овој групи најмања због најмање продукције хидрокси радикала ($\text{OH}\cdot$). Хидрокси радикал је најтоксичнији метаболит, јер доводи до иреверзибилног оштећења ћелијске мембране ћелије, липидне пероксидације, оштећења ДНК и митохондријалне мембране (*Cheng FC et al., 2002*). Овакви резултати сугеришу да спиронолактон у студији показује своје цитопротективне и антиоксидационе ефекте. Бројни догађаји повезани са оксидативним стресом такође учествују у штетним ефектима МР активације. Алдостерон може да подстакне кардиомиоците пацова да производе ROS *in vitro*. У животињским моделима КВ болести, антагониста МР зауставља развој оксидативног стреса (*Kuster et al., 2005; Maayas et al., 2007*). У моделу дијабетеса изазваног стрептозотоцином код пацова, спиронолактон је смањио статус срчаног оксидативног стреса и штитио од оштећења срца (*Maayas et al., 2017*). Резултати нашег истраживања су у складу са претходним налазом, с обзиром да је примена спиронолактона код спонтанохипертензивних пацова довела до значајног смањења свих утврђених прооксиданата (O_2^- , NO_2^- , H_2O_2 , и TBARS) у коронарном венском ефлуенту.

5.4. Утицај појединачних антихипертензивних лекова и њихових комбинација на патохистолошке промене у ткиву срца и бубрега

Близу 50% случајева срчане инсуфицијенције се јавља у присуству очуване ејекционе фракције леве коморе (*Borlaug BA et al., 2011*). Код пацијената са срчаном инсуфицијенцијом и очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе, хипертрофија кардиомиоцита и повишен садржај интерстицијалног колагена миокарда су истакнуте карактеристике ремоделовања ткива (*van Heerebeek L et al., 2006; Shah AM, 2013*). Међутим, терапије које су посебно усмерене на интерстицијалну фиброзу и хипертрофију (нпр. инхибиција фосфодиестеразе-5 и спиронолактон) су имале ограничену ефикасност у лечењу срчане инсуфицијенције са очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе, вероватно због касне примене терапија (нпр. након развоја иреверзибилних промена на нивоу ткива). Штавише, ослањање на хипертрофију леве коморе и њену регресију ради стратификације ризика има ограничења: регресија хипертрофије леве коморе (контролом крвног притиска) не нормализује у потпуности срчану прогнозу или инцидентну срчане инсуфицијенције (*Mathew J et al., 2001; Devereux RB et al., 2004*). У овом контексту, процена фиброзе ткива и хипертрофије кардиомиоцита неинвазивно у патолошком ремоделовању леве коморе – посебно заједно са терапијама које циљају на ове кључне патологије – била би фундаментална за претклинички развој лекова у срчаној инсуфицијенцији са очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе, и за циљање пацијената са највећом потенцијалном користи. С обзиром на значај фиброзе као мете за превенцију при преласку на срчану инсуфицијенцију са очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе, све већи клинички интерес се фокусирао на употребу терапије антагонистима минералокортикоидних рецептора (МР) у лечењу исте (*Shah SJ et al., 2013*).

У складу са нашим резултатима патохистолошке анализе ткивних пресека срца, где видимо да монотерапија спиронолактоном, али и комбинована терапија (ЗИС и ЗХС) примењена у трајању од 4 недеље је довела до редукције хипертрофије, је студија коју су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*) у којој је степен хипертрофије миокарда процењиван код спонтанохипертензивних пацова мерењем пречника кардиомиоцита у хематоксилином и еозином обојеним пресецима срца и израчунавањем односа тежине леве коморе:телесна тежина (mg/g), примећено је значајно смањење пречника кардиомиоцита и односа тежине леве коморе:телесна тежина код спонтанохипертензивних пацова третираних индапамидом у поређењу са нетретираним спонтанохипертензивним пацовима, што сугерише да и индапамид такође ублажава хипертрофију миокарда код хипертензије (*Ma F et al., 2013*).

У анималним моделима хипертрофије преоптерећења притиском, спиронолактон спречава интерстицијалну фиброзу, ћелијску хипертрофију и хипертрофију на нивоу органа, и спречава развој срчане инсуфицијенције (*Kuster GM et al., 2005*), што је такође потвђено и у нашој студији.

Иако МР антагонизам доводи до регресије хипертрофије леве коморе код хипертензивних особа (*Pitt B et al., 2003*), постоје опречни резултати о клиничким и физиолошким предностима спиронолактона у утврђеном стању срчане инсуфицијенције са очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе. Терапија МР антагонистима смањује интерстицијалну фиброзу и ћелијску хипертрофију код животињских модела, побољшавајући вентрикуларни учинак и преживљавање независно од снижавања крвног притиска или концентрације алдостерона у серуму. У највећој објављеној клиничкој студији у којој је испитиван спиронолактон код срчане инсуфицијенције са очуваном ејекцијом фракцијом леве коморе, Еделман и колеге су пријавили смањење масе леве коморе са благим побољшањем ехокардиографске дијастолне дисфункције код

пацијената лечених са спиронолактоном; нажалост, ово није довело до побољшања функционалног капацитета (*Edelmann F et al., 2013*). Имајући у виду комплексну, доживотну изложеност профибротичним коморбидитетима који блиско прате срчану инсуфицијенцију са очуваном ејекционом фракцијом леве коморе као што је стање хипертензије, ови резултати сугеришу да се истинске користи од МР антагонизма могу остварити превентивном применом раније у току болести, пре него што је завладала иреверзибилна интерстицијска фиброза. Међутим, превенција фиброзе применом спиронолактона (на супрот примене L-NAME) у стању срчане инсуфицијенције са очуваном функцијом леве коморе, сугерише да спиронолактон нормализује структурни фенотип миокарда (*Coelho-Filho OR et al., 2014*). Коришћењем *knock-out* МР модела специфичних за ћелије, показало се да недостатак МР у ћелијама глатких мишића спречава акутне ефекте исхемијске епизоде спречавањем оксидативног стреса посредованог МР- Rac-1 и његовог утицаја на рецептор ендотелина типа Б и ендотелну азотоксид синтазу активациону каскаду. Поред тога, МР антагонизам је такође био ефикасан да спречи исхемијску повреду у моделу билатералне исхемије бубрега код свиње. Механизми помоћу којих МР антагонизам штити од исхемијске повреде описани су у моделима И/Р повреде бубрега код глодара. Показало се да МР инхибиција спречава трајно смањење бубрежног крвотока повећањем биорасположивости азотоксида. Овај ефекат је посредован директним повећањем ендотелне активације синтазе азотоксида и спречавањем МР-индукованог повећања активности NADPH оксидазе у бубрезима (*Morales-Buenrostro LE et al., 2019*). Доказана су благотворна дејства дуготрајна инхибиција МР код И/Р повреде бубрега, стога дуготрајна примена спиронолактона има потенцијалну предност у очувању функције бубрега (*Medeiros M et al., 2017*), па може се рећи да су и наши резултати у сагласности са поменутиим истраживањем, с обзиром на то да је само 4 недеље примене спиронолактон спречио атрофију гломерула.

Даље, у истраживају које су спровели Ма и сарадници (*Ma F et al., 2013*) бојење бубрежних структура хематоксилином и еозином показало је присутност повећане крутости гломерула (гломерулопатија) код нетретираних спонтанохипертензивних пацова, која је била смањена третманом индапамидом или хидрохлортиазидом. Бојење колагена на пресецима бубрега открило је да су индапамид или хидрохлортиазид значајно смањили садржај бубрежног колагена код спонтанохипертензивних пацова. Ово је било повезано са смањењем албуминурије, што сугерише да је оштећење бубрега ослабљено индапамидом или хидрохлортиазидом код ових хипертензивних пацова. Када упоредимо са нашим резултатима бојења ткивних препарата бубрега хематоксилином и еозином, видимо да је у групи нетретираних спонтанохипертензивних пацова присутна је атрофија гломерура са проширеним уринарним простором, док је третман хидрохлортиазидом спречио атрофију гломерула, а у групи третираних индапамидом су били присутни ретки атрофични гломерули. Комбиновани третмани се нису показали као нефропротективни, с обзиром да је у обе групе (ЗХС и ЗИС) забележена атрофија гломерула са деструкцијом појединачних гломерула, израженом десквамацијом епитела тубула и проширеним уринарним просторима.

VI

ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу свих претходно изнетих резултат, можемо закључити следеће:

1. Хронична администрација антихипертензивних лекова самостално или у комбинацији је имала утицај на поједине кардиодинамске параметре изолованог срца спонтанохипертензивних пацова, праћено *ex vivo*:
 - индапамид је свеобухватно гледани побољшао срчану функцију
 - хидрохлортизид се издвојио по повољном дејству на срчану фреквенцу
2. Хронична администрација комбиноване терапије (АЦЕ-инхибитор и два диуретика) је:
 - ублажила хипертрофију леве коморе
 - повећала ејекциону фракцију срца (праћено *in vivo*)
3. Хронична администрација антихипертензивних лекова је снизила крвни притисак спонтанохипертензивних пацова, али је једино примена њихових комбинација (АЦЕ-инхибитор и два диуретика) довела до статистички значајног снижења.
4. Хронична администрација различитих антихипертензивних лекова самостално или у комбинацији је имала значајан утицај на коронарни и системски оксидациони статус спонтанохипертензивних пацова:
 - диуретици примењени као монотерапија (хидрохлортиазид, спиронолактон и индапамид) су испољили антиоксидативни потенцијал
 - у комбинованој примени, тестирани антихипертензиви и диуретици су показали благи прооксидативни потенцијал
5. Хронична администрација антихипертензивних лекова самостално или у комбинацији није довела до значајних хистопатолошких промена изолованог срца и бубрега спонтанохипертензивних пацова.

VII

ЛИТЕРАТУРА

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 1984;105:121–126 171. Beutler E. Superoxide dismutase. In: Beutler E, eds. *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods*. Philadelphia, Grune & Stratton:PA. 1984;83–85.
2. American College of Cardiology ASCVD Risk Estimator Plus. Accessed August 22, 2021. <http://tools.acc.org/ASCVD-Risk-Estimator-Plus/#!/calculate/estimate>
3. Ames MK, Atkins CE, Pitt B. The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *J Vet Intern Med*. 2019;33(2):363-382.
4. Andreadou I, Iliodromitis EK, Rassaf T, Schulz R, Papapetropoulos A, Ferdinandy P. The role of gasotransmitters NO, H₂S and CO in myocardial ischaemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning and remote conditioning. *British Journal of Pharmacology*. 2015;172:1587–1606.
5. Antikainen RL, Peters R, Beckett NS, et al. Left ventricular hypertrophy is a predictor of cardiovascular events in elderly hypertensive patients: Hypertension in the Very Elderly Trial. *J Hypertens*. 2016;34(11):2280-2286.
6. Aryal SR, Siddiqui M, Sharifov OF, et al. Spironolactone Reduces Aortic Stiffness in Patients With Resistant Hypertension Independent of Blood Pressure Change. *J Am Heart Assoc*. 2021;10(17):e019434.
7. Asil S, Atalar E. Hipertansiyon tedavisinde kullanılan tüm diüretikler aynı değildir [All diuretics used in the treatment of hypertension are not the same]. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2017;45:94-101.
8. Auclair C, Voisin E. 1985. Nitroblue tetrazolium reduction. In: *Handbook of methods for oxygen radical research*, (Ed R.A. Greenvald), 123-132. CRC Press, Boca Raton.
9. Basso N, Terragno NA. History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension*. 2001;38(6):1246-9.
10. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood. Glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963;61:882–888.
11. Borghi C, Ambrosio G, Van De Borne P, Mancia G. Zofenopril: Blood pressure control and cardio-protection. *Cardiol J*. 2022;29(2):305-318.
12. Borghi C, Bacchelli S, Degli Esposti D, Ambrosioni E. A review of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, zofenopril, in the treatment of cardiovascular diseases. *Expert Opin Pharmacother*. 2004;5(9):1965-77.
13. Borlaug BA, Paulus WJ. Heart failure with preserved ejection fraction: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eur Heart J*. 2011;32:670–679.
14. Bovet P, Schutte A E, Banatvala N, Burnier M. "Hypertension: Burden, epidemiology and priority interventions." *Noncommunicable Diseases*. Routledge, 2023. 58-65.
15. Brito R, Castillo G, González J, Valls N, Rodrigo R. Oxidative stress in hypertension: mechanisms and therapeutic opportunities. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2015;123(6):325-35.
16. Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, de Leeuw PW, Mancia G, Rosenthal T, Ruilope LM. Morbidity and mortality in patients randomised to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). *Lancet*. 2000;356(9227):366-72.
17. Brunelli E, La Russa D, Pellegrino D. Impaired Oxidative Status Is Strongly Associated with Cardiovascular Risk Factors. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:6480145.
18. Buonafine M, Bonnard B, Jaisser F. Mineralocorticoid Receptor and Cardiovascular Disease. *Am J Hypertens*. 2018;31:1165-1174.

19. Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences. *Cardiovasc Res* 2005;68:26-36.
20. Carnicelli V, Frascarelli S, Zucchi R. Effect of acute and chronic zofenopril administration on cardiac gene expression. *Mol Cell Biochem*. 2011;352(1-2):301-7.
21. Ceron CS, Castro MM, Rizzi E, Montenegro MF, Fontana V, Salgado MC, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Spironolactone and hydrochlorothiazide exert antioxidant effects and reduce vascular matrix metalloproteinase-2 activity and expression in a model of renovascular hypertension. *Br J Pharmacol*. 2010;160(1):77-87.
22. Chai W, Danser AH. Why are mineralocorticoid receptor antagonists cardioprotective? *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2006;374(3):153-62.
23. Chai W, Garrelts IM, Arulmani U, Schoemaker RG, Lamers JM, Danser AH. Genomic and nongenomic effects of aldosterone in the rat heart: why is spironolactone cardioprotective?. *British journal of pharmacology*. 2005;145(5):664–671.
24. Chen YR, Zweier JL. Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation. *Circ Res*. 2014;114(3):524-37.
25. Cheng FC, Jen JF, Tsai TH. Hydroxyl radical in living systems and its separation methods. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002;781(1-2):481-96.
26. Chillon JM, Baumbach GL. Effects of indapamide, a thiazide-like diuretic, on structure of cerebral arterioles in hypertensive rats. *Hypertension*. 2004;43(5):1092-7.
27. Cleland JGF, Ferreira JP, Mariottoni B, et al. The effect of spironolactone on cardiovascular function and markers of fibrosis in people at increased risk of developing heart failure: the heart 'OMics' in AGEing (HOMAGE) randomized clinical trial. *Eur Heart J*. 2021;42(6):684-696.
28. Coelho-Filho OR, Shah RV, Neilan TG, Mitchell R, Moreno H Jr, Kwong R, Jerosch-Herold M. Cardiac magnetic resonance assessment of interstitial myocardial fibrosis and cardiomyocyte hypertrophy in hypertensive mice treated with spironolactone. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(3):e000790.
29. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*. 2003; 24:987–1003.
30. Cowled P, Fitridge R. Pathophysiology of Reperfusion Injury. In: Fitridge R, Thompson M, editors. *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists* [Internet]. Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011. 18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534267/>
31. D'Agnillo F, Chang TM. Polyhemoglobin-superoxide dismutase-catalase as a blood substitute with antioxidant properties. *Nature biotechnology*. 1998;16:667.
32. Dahlöf B, Gosse P, Guéret P, Dubourg O, de Simone G, Schmieder R, Karpov Y, García-Puig J, Matos L, and De Leeuw PW, et al.; PICXEL Investigators. Perindopril/indapamide combination more effective than enalapril in reducing blood pressure and left ventricular mass: the PICXEL study. *J Hypertens*. 2005;23:2063–2070.
33. Daiber A, Kröller-Schön S, Frenis K, Oelze M, Kalinovic S, Vujacic-Mirski K, Kuntic M, Bayo Jimenez MT, Helmstädter J, Steven S, Korac B, Münzel T. Environmental noise induces the release of stress hormones and inflammatory signaling molecules leading to oxidative stress and vascular dysfunction-Signatures of the internal exposome. *Biofactors*. 2019;45(4):495-506.
34. Dedkov EI, Bogatyryov Y, McCooey DS, Christensen LP, Weiss RM, Tomanek RJ. Effect of Chronic Heart Rate Reduction by I(f) Current Inhibitor Ivabradine on Left Ventricular Remodeling and Systolic Performance in Middle-Aged Rats With Postmyocardial Infarction Heart Failure. *Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics*. 2015;20(3):299–312.

35. Devereux RB, Wachtell K, Gerds E, Boman K, Nieminen MS, Papademetriou V, Rokkedal J, Harris K, Aurup P, Dahlof B. Prognostic significance of left ventricular mass change during treatment of hypertension. *JAMA*. 2004; 292:2350–2356.
36. Dikalov SI, Ungvari Z. Role of mitochondrial oxidative stress in hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;305(10):H1417-27.
37. DiNicolantonio JJ, Bhutani J, Lavie CJ, O'Keefe JH. Evidence-based diuretics: focus on chlorthalidone and indapamide. *Future Cardiol*. 2015;11:203-217.
38. Donato AJ, Machin DR, Lesniewski LA. Mechanisms of Dysfunction in the Aging Vasculature and Role in Age-Related Disease. *Circ Res*. 2018;123(7):825-848.
39. Donnarumma E, Ali MJ, Rushing AM, Scarborough AL, Bradley JM, Organ CL, Islam KN, Polhemus DJ, Evangelista S, Cirino G, Jenkins JS, Patel RA, Lefer DJ, Goodchild TT. Zofenopril Protects Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury by Increasing Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide Bioavailability. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(7):e003531.
40. Doumas M, Imprialos KP, Kallistratos MS, Manolis AJ. Recent advances in understanding and managing resistant/refractory hypertension. *F1000Res*. 2020;9:F1000 Faculty Rev-169.
41. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
42. Edelmann F, Wachter R, Schmidt AG, Kraigher-Krainer E, Colantonio C, Kamke W, Duvinage A, Stahrenberg R, Durstewitz K, Löffler M, Dungen HD, Tschope C, Herrmann-Lingen C, Halle M, Hasenfuss G, Gelbrich G, Pieske B. Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial. *JAMA*. 2013;309:781–791.
43. Fagard RH, Celis H, Thijs L, Wouters S. Regression of left ventricular mass by antihypertensive treatment: a meta-analysis of randomized comparative studies. *Hypertension*. 2009;54(5):1084-1091.
44. Ferrari P, Frey FJ. Angriffspunkte der Diuretika in der Niere [Pharmacologic action of diuretics in the kidney]. *Ther Umsch*. 2000;57(6):345-50.
45. Ferrari R, Cargnoni A, Curello S, Ceconi C, Boraso A, Visioli O. Protection of the ischemic myocardium by the converting-enzyme inhibitor zofenopril: insight into its mechanism of action. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1992;20(5):694-704.
46. Ferrari R. RAAS inhibition and mortality in hypertension. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2013;2013(3):269-78.
47. Ferreira JP, Rossignol P, Pizard A, et al. Potential spironolactone effects on collagen metabolism biomarkers in patients with uncontrolled blood pressure. *Heart*. 2019;105(4):307-314.
48. Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(9):689-709.
49. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, Coffman TM, Kawai T, Rizzo V, Scalia R, Eguchi S. Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology. *Physiol Rev*. 2018;98(3):1627-1738.
50. Fouad-Tarazi FM: Left ventricular diastolic dysfunction in hypertension. *Curr Opin Cardiol* 1994; 9: 551–560.
51. Ganong's Review of Medical Physiology, 24th Edition, LANGE Basic Science.
52. Girotti AW. Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med*. 1985;1(2):87-95.

53. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. 1982. Analysis of nitrate, nitrite and [15 N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131- 138.
54. Group TA. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). *JAMA*. 2002;288(23):2981-97.
55. *Guideline: Sodium Intake for Adults and Children*. World Health Organization, 2012.
56. Halliwell B, Adhikary A , Dingfelder M , Dizdaroglu M . Hydroxyl radical is a significant player in oxidative DNA damage in vivo. *Chem Soc Rev*. 2021;50(15):8355-8360.
57. Hargovan M, Ferro A. Aldosterone synthase inhibitors in hypertension: current status and future possibilities. *JRSM Cardiovasc Dis*. 2014;3:2048004014522440.
58. Hausenloy DJ, Chilian W, Crea F, Davidson SM, Ferdinandy P, Garcia-Dorado D, van Royen N, Schulz R, Heusch G. The coronary circulation in acute myocardial ischaemia/reperfusion injury: a target for cardioprotection. *Cardiovascular research*. 2019;115(7):1143–1155.
59. Hausenloy DJ, Yellon DM. The therapeutic potential of ischemic conditioning: an update. *Nature Reviews Cardiology*. 2011;8:619–629.
60. HeartScore. EAPC European Association of Preventive Cardiology. Accessed August 22, 2021. <https://www.heartscore.org>
61. Herichova I, Szantoova K. Renin-angiotensin system: upgrade of recent knowledge and perspectives. *Endocr Regul*. 2013;47(1):39-52.
62. Herrmann SM, Textor SC. Renovascular Hypertension. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2019;48(4):765-778.
63. Heusch G, Kleinbongard P, Skyschally A, Levkau B, Schulz R, Erbel R. The coronary circulation in cardioprotection: more than just one confounder. *Cardiovascular research*. 2012;94(2):237–245.
64. Heusch G, Libby P, Gersh B, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure. *The Lancet*. 2014;383:1933–1943.
65. Hoepfer MM, Ghofrani HA, Grünig E, Klose H, Olschewski H, Rosenkranz S. Pulmonary Hypertension. *Dtsch Arztebl Int*. 2017;114(5):73-84.
66. Hsu CN, Tain YL. Targeting the Renin-Angiotensin-Aldosterone System to Prevent Hypertension and Kidney Disease of Developmental Origins. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2298.
67. https://www.who.int/health-topics/hypertension#tab=tab_1
68. Iglarz M, Touyz RM, Viel EC, Amiri F, Schiffrin EL. Involvement of oxidative stress in the profibrotic action of aldosterone. Interaction with the renin – angiotensin system. *Am J Hypertens* 2004;17:597 – 603.
69. Imig JD, Zou AP, Stec DE, Harder DR, Falck JR, and Roman RJ. Formation and actions of 20-hydroxyecosatetraenoic acid in rat renal arterioles. *Am J Physiol*. 1996b;270:R217–R227.
70. Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lekarski*. 2020;48(284):124-127.
71. Jordan J, Kurschat C, Reuter H. Arterial Hypertension. *Dtsch Arztebl Int*. 2018;115(33-34):557-568.
72. Kažić T. (2009). *Klinička kardiovaskularna farmakologija*. Beograd: Integra.
73. Krzemińska J, Wronka M, Młynarska E, Franczyk B, Rysz J. Arterial Hypertension- Oxidative Stress and Inflammation. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(1):172.

74. Kućmierz J, Frąk W, Młynarska E, Franczyk B, Rysz J. Molecular Interactions of Arterial Hypertension in Its Target Organs. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18):9669.
75. Kuru O, Senturk UK, Demir N. Effect of exercise on blood pressure in rats with chronic NOS inhibition. *Eur J Appl Physiol* 2002; 87:134–140.
76. Kuster GM, Kotlyar E, Rude MK, Siwik DA, Liao R, Colucci WS, Sam F. Mineralocorticoid receptor inhibition ameliorates the transition to myocardial failure and decreases oxidative stress and inflammation in mice with chronic pressure overload. *Circulation.* 2005;111:420–427.
77. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ.* 2009;338:b1665.
78. Lee GJ, Kim SK, Kang SW, et al. Real time measurement of myocardial oxygen dynamics during cardiac ischemia-reperfusion of rats. *Analyst.* 2012;137:5312–5319.
79. Leren P, Helgeland A. Oslo hypertension study. *Drugs.* 1986;31(Suppl. 1):41–45.
80. López B, González A, Varo N, Laviades C, Querejeta R, Díez J. Biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive heart disease. *Hypertension.* 2001;38(5):1222-1226.
81. Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.* 2014;224:164-75.
82. Ma F, Lin F, Chen C, Cheng J, Zeldin DC, Wang Y, Wang DW. Indapamide lowers blood pressure by increasing production of epoxyeicosatrienoic acids in the kidney. *Mol Pharmacol.* 2013;84(2):286-95.
83. Madden KM, Lockhart C, Potter TF, Cuff D. Aerobic training restores arterial baroreflex sensitivity in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. *Clin J Sport Med.* 2010; 20:312-7.
84. Mailloux RJ. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. *Redox Biol.* 2015;4:381-98.
85. Mancía G, Seravalle G, Grassi G. Sympathetic nervous factors, pressure variability and organ damage in arterial hypertension. *Ann Ital Med Int.* 1997;12(4):217-22.
86. Marrocco I, Altieri F, Peluso I. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:6501046.
87. Mathew J, Sleight P, Lonn E, Johnstone D, Pogue J, Yi Q, Bosch J, Sussex B, Probstfield J, Yusuf S. Reduction of cardiovascular risk by regression of electrocardiographic markers of left ventricular hypertrophy by the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramipril. *Circulation.* 2001;104:1615–1621.
88. Mayyas F, Alzoubi KH, Bonyan R. The role of spironolactone on myocardial oxidative stress in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Cardiovasc Ther.* 2017;35:e12242.
89. Mayyas Sartório CL, Fraccarollo D, Galuppo P, Leutke M, Ertl G, Stefanon I, Bauersachs J. Mineralocorticoid receptor blockade improves vasomotor dysfunction and vascular oxidative stress early after myocardial infarction. *Hypertension.* 2007;50:919–925.
90. McCormack T, Boffa RJ, Jones NR, Carville S, McManus RJ. The 2018 ESC/ESH hypertension guideline and the 2019 NICE hypertension guideline, how and why they differ. *Eur Heart J.* 2019;40(42):3456-3458.
91. McNally RJ, Morselli F, Farukh B, Chowienczyk PJ, Faconti L. A review of the prescribing trend of thiazide-type and thiazide-like diuretics in hypertension: A UK perspective. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(12):2707-2713.

92. Medeiros M, Velásquez-Jones L, Hernández AM, Ramón-García G, Valverde S, Fuentes Y, Vargas A, Patiño M, Pérez-Villalva R, Ortega-Trejo JA, Barrera-Chimal J, Bobadilla NA. Randomized controlled trial of mineralocorticoid receptor blockade in children with chronic kidney allo-graft nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12:1291–1300.
93. Messerli FH, Rimoldi SF, Bangalore S. The Transition From Hypertension to Heart Failure: Contemporary Update. *JACC Heart Fail*. 2017;5(8):543-551.
94. Milliez P, Gomes S, Champ-Rigot L, Callebert J, Samuel JL, Delcayre C. Effects of spironolactone alone and in addition to a β -blocker on myocardial histological and electrical remodeling in chronic severe failing rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2012;60(3):315-21.
95. Miyata N and Roman RJ. Role of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) in vascular system. *J Smooth Muscle Res*. 2005;41:175–193.
96. Mølgaard S, Faricelli B, Salomonsson M, Engstrøm T, and Treiman M. Increased myocardial vulnerability to ischemia-reperfusion injury in the presence of left ventricular hypertrophy. *J Hypertens*. 2016;34:513– 523,
97. Morales-Buenrostro LE, Ortega-Trejo JA, Pérez-Villalva R, Marino LA, González-Bobadilla Y, Juárez H, Zamora-Mejía FM, González N, Espinoza R, Barrera-Chimal J, Bobadilla NA. Spironolactone reduces oxidative stress in living donor kidney transplantation: a randomized controlled trial. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2019;317(3):F519-F528.
98. Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, González-Gómez LM, Vecchiola A, Fardella CE, Kalergis AM. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7):797.
99. Muntner P, Carey RM, Gidding S, Jones DW, Taler SJ, Wright JT, Whelton PK. Potential U.S. population impact of the 2017 ACC/AHA high blood pressure guideline. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:109–118.
100. Musini VM, Nazer M, Bassett K, Wright JM. Blood pressure-lowering efficacy of monotherapy with thiazide diuretics for primary hypertension. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;(5):CD003824.
101. Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. *In Vivo*. 1999;13(3):295-309.
102. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet* 2021;398:957–80.
103. Node K. Benefits and risks of combination therapy in hypertension. *Hypertens Res*. 2009;32:727–728.
104. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-358.
105. Pagliaro P and Penna C. Hypertension, hypertrophy, and reperfusion injury. *J Cardiovasc Med*. 2017;18:131–135.
106. Paravicini TM, Touyz RM. Redox signaling in hypertension. *Cardiovasc Res*. 2006;71(2):247-58.
107. Park SY, Kwon OS, Andtbacka RHI, Hyingstrom JR, Reese V, Murphy MP, Richardson RS. Age-related endothelial dysfunction in human skeletal muscle feed arteries: the role of free radicals derived from mitochondria in the vasculature. *Acta Physiol (Oxf)*. 2018;222(1).
108. Paul K Whelton, Robert M Carey, Giuseppe Mancia, Reinhold Kreutz, Joshua D Bundy, Bryan Williams, Harmonization of the American College of Cardiology/American

- Heart Association and European Society of Cardiology/European Society of Hypertension Blood Pressure/Hypertension Guidelines: Comparisons, Reflections, and Recommendations, *European Heart Journal*. 2022;43(35):3302–3311.
109. Phillips M I, Schmidt-Ott KM. The Discovery of Renin 100 Years Ago. *Physiology*. 1999;14(6):271–274.
110. Pick E, Keisari Y. 1980. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 38:161-170.
111. Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, Zannad F, Phillips RA, Roniker B, Kleiman J, Krause S, Burns D, Williams GH. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation*. 2003;108:1831–1838.
112. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*. 1999;341(10):709-717.
113. Puig JG, Marre M, Kokot F, Fernandez M, Jermendy G, Opie L, Moyseev V, Scheen A, Ionescu-Tirgoviste C, and Saldanha MH, et al. Efficacy of indapamide SR compared with enalapril in elderly hypertensive patients with type 2 diabetes. *Am J Hypertens*. 2007;20:90–97.
114. Puschett JB. Pharmacological classification and renal actions of diuretics. *Cardiology*. 1994;84 Suppl 2:4-13.
115. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(23):5839-5848.
116. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*. 2012;24(5):981-90.
117. Roush GC, Ernst ME, Kostis JB, Tandon S, Sica DA. Head-to-head comparisons of hydrochlorothiazide with indapamide and chlorthalidone: antihypertensive and metabolic effects. *Hypertension*. 2015;65(5):1041-1046.
118. Roush GC, Kaur R, Ernst ME. Diuretics: a review and update. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014;19(1):5-13.
119. Ruilope LM. Aldosterone, hypertension, and cardiovascular disease: an endless story. *Hypertension*. 2008;52(2):207-208.
120. Sarniak A, Lipińska J, Tytman K, Lipińska S. Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70(0):1150-1165.
121. Sato A, Hayashi M, Saruta T. Relative long-term effects of spironolactone in conjunction with an angiotensin-converting enzyme inhibitor on left ventricular mass and diastolic function in patients with essential hypertension. *Hypertens Res*. 2002;25(6):837-42.
122. Sato A, Saruta T: Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J Int Med Res* 2001;29:13–21.
123. Sato A, Suzuki Y, Saruta T: Effects of spironolactone and angiotensin-converting enzyme inhibitor on left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 1999;22:17–27.
124. Sato A, Suzuki Y, Shibata H, Saruta T: Plasma aldosterone concentrations are not related to the degree of angiotensin-converting enzyme inhibition in essential hypertensive patients. *Hypertens Res* 2000;23:25–31.
125. Sato A, Takane H, Saruta T: High serum level of procollagen type III amino-terminal peptide contributes to the efficacy of spironolactone and angiotensin-converting enzyme

- inhibitor therapy on left ventricular hypertrophy in essential hypertensive patients. *Hypertens Res* 2001;24:99–104.
126. Shah AM. Ventricular remodeling in heart failure with preserved ejection fraction. *Curr Heart fail Rep.* 2013;10:341–349.
127. Shah SJ, Heitner JF, Sweitzer NK, Anand IS, Kim HY, Harty B, Boineau R, Clausell N, Desai AS, Diaz R, Fleg JL, Gordeev I, Lewis EF, Markov V, O'Meara E, Kobulia B, Shaburishvili T, Solomon SD, Pitt B, Pfeffer MA, Li R. Baseline characteristics of patients in the treatment of preserved cardiac function heart failure with an aldosterone antagonist trial. *Circ Heart Fail.* 2013;6:184–192.
128. Shah SU, Anjum S, Littler WA. Use of diuretics in cardiovascular disease: (2) hypertension. *Postgrad Med J.* 2004;80(943):271-276.
129. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:715-748.
130. Sretenovic J, Ajdzanovic V, Zivkovic V, Srejovic I, Corbic M, Milosevic V, Jakovljevic V, Milosavljevic Z. Nandrolone decanoate and physical activity affect quadriceps in peripubertal rats *Acta Histochem.* 2018;120(5):429-437.
131. Sun Y, Ahokas RA, Bhattacharya SK, Gerling IC, Carbone LD, Weber KT. Oxidative stress in aldosteronism. *Cardiovasc Res.* 2006;71(2):300-9.
132. Tamargo J, Segura J, Ruilope LM. Diuretics in the treatment of hypertension. Part 1: thiazide and thiazide-like diuretics. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(4):527-47.
133. Tauffenberger A, Magistretti PJ. Reactive Oxygen Species: Beyond Their Reactive Behavior. *Neurochem Res.* 2021;46(1):77-87.
134. Tenopoulou M, Doulias PT. Endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in the regulation of metabolism. *F1000Res.* 2020;9:F1000 Faculty Rev-1190.
135. Touyz RM, Rios FJ, Alves-Lopes R, Neves KB, Camargo LL, Montezano AC. Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Can J Cardiol.* 2020;36(5):659-670.
136. Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension.* 2004;44(3):248-52.
137. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Blaxall BC. Cardiac fibrosis: the fibroblast awakens. *Circ Res.* 2016;118:1021–1040.
138. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
139. van der Weg K, Prinzen FW, Gorgels AP. Editor's Choice- Reperfusion cardiac arrhythmias and their relation to reperfusion-induced cell death. *European heart journal. Acute cardiovascular care.* 2019;8(2):142–152.
140. van Heerebeek L, Borbely A, Niessen HW, Bronzwaer JG, van der Velden J, Stienen GJ, Linke WA, Laarman GJ, Paulus WJ. Myocardial structure and function differ in systolic and diastolic heart failure. *Circulation.* 2006; 113:1966–1973.
141. Wang Y, Evangelista S, Liu Y, Zhang MS. Beneficial effects of nebivolol and hydrochlorothiazide combination in spontaneously hypertensive rats. *J Int Med Res.* 2013;41(3):603-17.
142. Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med.* 2004;36(2):226-32.
143. Williams B, MacDonald TM, Morant S, Webb DJ, Sever P, McInnes G, Ford I, Cruickshank JK, Caulfield MJ, Salsbury J, Mackenzie I, Padmanabhan S, Brown MJ; British Hypertension Society's PATHWAY Studies Group. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant

- hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet*. 2015;386(10008):2059-2068.
144. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominicczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I; Authors/Task Force Members:. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2018;36(10):1953-2041.
 145. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominicczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I; ESC Scientific Document Group. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018;39(33):3021-3104.
 146. Williams B. Drug discovery in renin-angiotensin system intervention: past and future. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2016;10(3):118–125.
 147. Yahiro E, Ideishi M, Wang LX, Urata H, Kumagai K, Arakawa K, Saku K. Reperfusion-induced arrhythmias are suppressed by inhibition of the angiotensin II type 1 receptor. *Cardiology*. 2003; 99(2):61–67.
 148. Yang X, Li Y, Li Y, Ren X, Zhang X, Hu D, Gao Y, Xing Y, Shang H. Oxidative Stress-Mediated Atherosclerosis: Mechanisms and Therapies. *Front Physiol*. 2017;8:600.
 149. Yu Z, Xu F, Huse LM, Morisseau C, Draper AJ, Newman JW, Parker C, Graham L, Engler MM, and Hammock BD, et al. Soluble epoxide hydrolase regulates hydrolysis of vasoactive epoxyeicosatrienoic acids. *Circ Res*. 2000;87:992–998.
 150. Zhao X and Imig JD. Kidney CYP450 enzymes: biological actions beyond drug metabolism. *Curr Drug Metab*. 2003;4:73–84.
 151. Zhou B et al. Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. *Nat Rev Cardiol* 2021;18:785–802.
 152. Zuccarella-Hackl C, von Känel R, Thomas L, Hauser M, Kuebler U, Widmer HR, Wirtz PH. Macrophage Superoxide Anion Production in Essential Hypertension: Associations With Biological and Psychological Cardiovascular Risk Factors. *Psychosom Med*. 2016;78(6):750-7.
 153. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2006;70(2):181-90.

СКРАЋЕНИЦЕ

AMI - acute myocardial infarction

BP - blood pressure

CF - coronary flow

DBP – diastolic blood pressure

DLVP - diastolic left ventricular pressure

dp/dt max - maximum rate of pressure development in the left ventricle

dp/dt min - minimum rate of pressure development in the left ventricle

ECV - extracellular volume

EF - ejection fraction

EHO – echocardiography

ENaC - epithelial Na⁺ channel

FS - fractional shortening

H₂O₂ - hydrogen peroxide

HR - heart rate

I/R – ischemia-reperfusion

IVSd - end-diastolic interventricular septal thickness

IVSs - end-systole interventricular septal thickness

LVIDd - left ventricular internal diameter end-diastole

LVIDs - left ventricular internal diameter end-systole

LVPWd - left ventricular end-diastolic posterior wall thickness

LVPWs - left ventricular posterior wall thickness

MR - mineralocorticoid receptor

NO₂⁻ - nitrite

O₂⁻ - superoxide anion radical

R - reperfusion

RAAS - renin-angiotensin-aldosterone system

ROS - reactive oxygen species

RNS - reactive nitrogen species

S – stabilization

SBP – systolic blood pressure

SD - standard deviation

SHR - spontaneously hypertensive rats

SLVP - systolic left ventricular pressure

TBARS - thiobarbituric acid-reactive substances

БИОГРАФИЈА

Адреса: Краља Милана IV бр. 86, Вашариште, Крагујевац
Мобилни телефон: 060/2200344
e-mail: nensy1977@gmail.com

ОБРАЗОВАЊЕ И АКТИВНОСТИ

Драгашевић Невена, рођена у Крагујевцу 07. фебруара 1977 .године. У периоду од 1991-1995. године завршила Гимназију у Крагујевцу. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписала 1995. године, а 1999. године школовање наставила на Медицинском факултету Универзитета у Београду, где је дипломирала у фебруару 2003. године са просечном оценом 8,69. Приправнички стаж завршава у оквиру Клиничког центра Крагујевац као и у Дому здрављау Крагујевцу. У августу 2005. године почиње да ради у Галеници А.Д на позицији стручног сарадника где је и данас запослена. У октобру 2015. године започиње Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу на изборном подручју Клиничка и експериментална примењена физиологија са спортском медицином. У септембру 2020. године започиње специјализацију из Клиничке фармакологије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Говори енглески језик. Такође одлично познаје рад на рачунару.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Dragasevic N**, Savic M, Mihajlovic K, Zivkovic V, Andjic M, Draginic N, Zdravkovic N, Bolevich S, Bolevich S, Jakovljevic V, Nikolic Turnic T. The impact of different diuretics on regression of myocardial reperfusion injury in spontaneously hypertensive rats. *Mol Cell Biochem.* 2022 Dec 27. doi: 10.1007/s11010-022-04622-x. Epub ahead of print.
2. Vuckovic-Filipovic J, **Dragasevic N**, Djokic B and Ratinac M. Carotid sinus syndrome - case report. 2022 Nov 15. DOI: 10.2478/sjocr-2022-0041
3. **Dragasevic N**, Jakovljevic V, Zivkovic V, Draginic N, Andjic M, Bolevich S, Jovic S. The role of aldosterone inhibitors in cardiac ischemia-reperfusion injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(1):18-29.

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Ефекти различитих антихипертензивних агенаса на исхемијско/реперфузни поремећај изолованог срца пацова са хипертензијом“

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 , године,

Đorđević Jelena
потпис аутора

Образац 2

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

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

„ Ефекти различитих антихипертензивних агенаса на исхемијско/реперфузиони
поремећај изолованог срца пацова са хипертензијом“

истоветне.

У Крагујевцу _____ године,

Dragica Velena
потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Невена Драгашевић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом: „Ефекти различитих антихипертензивних агенаса на исхемијско/реперфузиони поремећај изолованог срца пацова са хипертензијом“

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 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.

1) Ауторство

2) Ауторство - делити под истим условима

3) Ауторство - без прерада

4) Ауторство - некомерцијално

5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима

6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу , _____ године,

Dragošević Nevena
потпис аутора

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/>