

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Мр Мирослав Мишић

**ЕФЕКТИ Pt(IV) КОМПЛЕКСА НА КОНТРАКТИЛНОСТ, КОРОНАРНИ ПРОТОК  
И ОКСИДАТИВНИ СТРЕС ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2015.

## САДРЖАЈ

<b>1. УВОД</b> .....	5
1.1. КОМПЛЕКСНА ЈЕДИЊЕЊА ПЛАТИНЕ У БИОМЕДИЦИНИ.....	5
1.1.1. Прва генерација.....	6
1.1.2. Друга генерација.....	7
1.1.3. Трећа генерација.....	9
1.1.4. Четврта генерација.....	14
1.2. ФИЗИОЛОШКА ФУНКЦИЈА СРЦА И КАРДИОВАСКУЛАРНОГ СИСТЕМА.....	16
1.2.1. Кардиоваскуларни систем и коронарна циркулација.....	16
1.2.2. Срчани циклус.....	17
1.2.3. Контрактилност срца.....	18
1.3. КАРДИОТОКСИЧНОСТ ЈЕДИЊЕЊА ПЛАТИНЕ КОЈА СЕ КОРИСТЕ У БИОМЕДИЦИНИ.....	20
1.4. УЛОГА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА У КАРДИОТОКСИЧНОСТИ.....	22
<b>2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ</b> .....	24
<b>3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД</b> .....	25
3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ.....	25
3.1.1. Метода ретроградне перфузије изолованог срца по Лангендорфу.....	25
3.1.2. Експериментални протокол.....	29
3.1.3. Експерименталне групе.....	30
3.2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ .....	31
3.3. ИСПИТИВАНЕ СУПСТАНЦЕ.....	31

3.3.1. Тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекс, [PtCl <sub>4</sub> (en)].....	32
3.3.2. Тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекс, [PtCl <sub>4</sub> (dach)] .....	32
3.4. КАРДИОДИНАМСКИ ПАРАМЕТРИ.....	35
3.5. БИОХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ.....	36
3.5.1. Параметри оксидативног стреса.....	36
3.5.1.1. Одређивање азот-моноксида у облику нитрита.....	37
3.5.1.2. Одређивање индекса липидне пероксидације.....	38
3.5.1.3. Одређивање супероксид-анјон радикала.....	39
3.5.1.4. Одређивање водоник-пероксида.....	40
3.5.2. Ензимски параметри некрозе миокарда .....	42
3.5.2.1. Аспартат-аминотрансфераза.....	42
3.5.2.2. Аланин-аминотрансфераза.....	42
3.5.2.3. Лактат-дехидрогеназа.....	42
3.5.2.4. Креатин-киназа.....	42
3.5.2.5. Креатин-киназа, изоензим МБ.....	42
3.6. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА .....	43
3.7. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА .....	43
<b>4. РЕЗУЛТАТИ.....</b>	<b>44</b>
4.1. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ- ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО- ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАНЕ КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА.....	44

4.2. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ- ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО- ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКЕ ПАРАМЕТРЕ У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА.....	52
4.2.1. Параметри оксидативног стреса.....	52
4.2.1.1. Азот-моноксид у облику нитрита.....	53
4.2.1.2. Супероксид анјон радикал.....	54
4.2.1.3. Водоник-пероксид .....	54
4.2.1.4. Индекс липидне пероксидације.....	55
4.2.2. Ензимски параметри некрозе миокарда.....	56
<b>5. ДИСКУСИЈА.....</b>	<b>58</b>
5.1. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ- ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО- ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ КАРДИОДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА .....	58
5.2. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ- ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО- ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА.....	63
<b>6. ЗАКЉУЧЦИ .....</b>	<b>67</b>
<b>7. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>68</b>
<b>8. ПРИЛОГ .....</b>	<b>82</b>

## 1.УВОД

### 1.1. КОМПЛЕКСНА ЈЕДИЊЕЊА ПЛАТИНЕ У БИОМЕДИЦИНИ

Најзначајнија биолошка улога платине огледа се у употреби њих комплексних једињења за хемијотерапију. После рада Бернета Розенберга (*Barnett Rosenberg*), који је у другој половини шездесетих година XX века открио цитостатске ефекте цисплатине и сродних комплекса јавља се шири интерес за фармаколошке особине металних једињења [1].

Захваљујући ефикасности цисплатине која је постигнута у хемиотерапији за лечење појединих карцинома, дизајнирана су нова истраживања са циљем да се добију нови деривати (аналози цисплатине) са побољшаним фармаколошким особинама. Тако је цисплатина означена као прототип за ову групу антитуморских агенаса. До данас је синтетизован велики број деривата који су испитивани у преклиничким или клиничким истраживањима (рана фаза). Само мали број је регистрован за примену у клиничкој пракси: карбоплатина одобрена за примену у целом свету, недаплатина (Јапан) и лобаплатина (Кина) одобрени на регионалном нивоу. Постоје основна два типа деривата (аналога) цисплатине: Pt(II) квадрипланарни комплекс са *cis*-конфигурацијом и Pt(IV) октаедарски комплекс [1].

Превођење двовалентних, Pt(II)-комплекса платине у одговарајуће четворовалентне Pt(IV)-комплексе платине, вршено је ради добијања кинетички инертних аналога (мање реактивни од платина (II) аналога) са већом биорасположивошћу, адекватном липофилношћу и растворљивошћу у води, због чега се Pt(IV)-комплекси потенцијално могу и орално примењивати, што би довело до једноставнијег лечења пацијената [2,3].

Антитуморска активност Pt(IV) комплекса се огледа у биотрансформацији (редукцији) до активног Pt(II) облика, *in vivo*, који даље испољава цитотоксичне ефекте аналогне цисплатини или њеним дериватима, због чега се овакви комплекси називају прекурсори двовалентних аналога [2,3].

### 1.1.1. Прва генерација

Прво комплексно једињење платине које се више од три деценије користи у медицини као антитуморски агенс (цитостатик) је цисплатина, *cis*-диаминдихлороплатина(II), *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (Схема 1) [1]. Синтезу цисплатине први је извршио Мишел Пејрон (*Michele Peyrone*) 1845. године по коме је овај молекул добио назив Пејронов хлорид. Биолошку активност цисплатине открили су Бернет Розенберг (*Barnett Rosenberg*) и Кавалјери (*Cavalieri*) 1965. године. Регистрована је за лечење карцинома тестиса и једњака 1978. године [1,4].

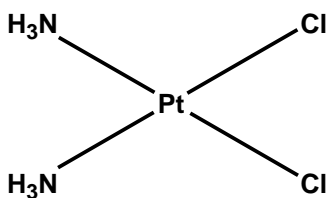


Схема 1. Структура цисплатине.

Приликом интравенске примене, цисплатина се у крви везује за протеине плазме (албумин, трансферин,  $\gamma$ -глобулин) и у малој мери за еритроците [1].

Механизам антитуморског дејства цисплатине огледа се у интеракцији са молекулом ДНК [5]. Комплекси платине на туморске ћелије делују тако што спречавају синтезу нових молекула ДНК и што спречавају опоравак платинованих молекула ДНК. Након што доспе у ћелију молекул комплекса платине отпусти хлоридне или оксалатне ањоне и веже два молекула воде. Настаје позитивно наелектрисан молекул који може даље да интерагује са нуклеофилним молекулима у ћелији као што су ДНК, РНК и протеини [6]. Молекули цисплатине се ковалентно везују за молекул ДНК у само 5-10% случајева и то за N7 атом имидазоловог прстена аденозина или гуанозина. Остатак, односно 90-95% молекула цисплатине се веже за различите протеине [7], из тог разлога услед лечења појављују се нежељена дејства (мучнина, повраћање, опадање косе) и тешка

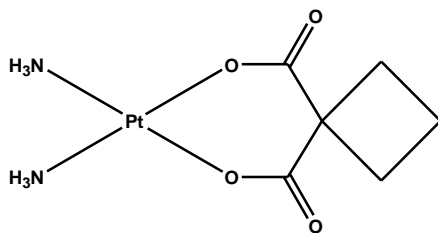
токсичност (нуротоксичност, ототоксичност, нефротоксичност). Терапија цисплатином такође изазива и кардиотоксичност [8-11]. Због нефротоксичности коју изазива цисплатина уведена је прехидрација и форсирана диуреза и на тај начин се спречава акутна бубрежна инсуфицијенција [1]. Неуротоксичност коју изазива цисплатина огледа се кумулативној периферној неуропатији која је најчешће реверзибилна након завршетка терапије. Учињено је много напора на развоју хемопротективних лекова који ублажавају нежељене ефекте, а да притом не утичу на антитуморску ефикасност при терапији са цисплатином. Хемопротектант који је широко прихваћен је амифосфатин. Овај медикамент се користи уз терапију са цисплатином што у извесној мери утиче на смањење учесталости нефротоксичности и неуротоксичности [1]. Поред доказане клиничке успешности не може се игнорисати чињеница да чак и код карцинома са великом брзином одговора (осим код карцинома тестиса где је стопа излечења преко 90 %) терапијски успех још увек је ограничен у великом броју случајева. Под терапеутским ограничењем се сматра непотпуно реаговање или стварање резистенције на лек. Експериментално је доказано да терапијом створена резистенција није апсолутна. Концентрације потребне за терапијску ефикасност су толико високе да се не могу давати пацијентима због токсичности која је лимитирајући фактор при дозирању. Поред недостатака (појава резистенције, нежељена дејства и тешка токсичност) цисплатина је и даље лек избора за лечење карцинома тестиса, главе, врата и мокраћне бешике [1].

### **1.1.2. Друга генерација**

Заменом одлазећих, лабилних монодентатних лиганата (јони хлора) стабилним бидентатним лигандима (нпр., дикарбоксилат), добијени су аналози са мањом токсичношћу (токсичност опада уколико опада лабилност одлазећег лиганда) и задржаном антитуморском активношћу. Међутим, када се лиганди вежу јаким везама у комплекс, антитуморска активност се губи.

Ове чињенице су указале да је антитуморска активност одређена природом везе између платине и одлазећег лиганда [1]. Лекови на бази платине који припадају другој генерацији су: карбоплатина и недаплатина.

**Карбоплатина**, *cis*-диамин(1,1-циклобутандикарбоксилато)платина(II) (Схема 2) [1], је први аналог цисплатине који је регистрован за клиничку примену из следећих разлога: не изазива нефротоксичност у уобичајеним дозама, зато се може давати без хидрације и диуретика; изазива много мању неуротоксичност и ототоксичност у односу на цисплатину; гастроинтестинални нежељени ефекти (мучнина и повраћање) нису изражени. Недостаци су мијелотоксичност са израженом тромбоцитопенијом. Мијелотоксичност лимитира терапијску дозу овог лека. Све ове наведене особине дају укупно предност карбоплатини у односу на цисплатину у случају високо дозне хемијотерапије за лечење неких карцинома оваријума и плућа [12-14].



**Схема 2.** Структура карбоплатине.

Клиничка ефикасност карбоплатине већа је него што би се могло очекивати на основу ниске реактивности према ДНК. Код изоловане ДНК потребно је око 100 пута већа концентрација карбоплатине у односу на цисплатину да би се постигла иста стопа платинације ДНК [1]. Док су клиничке студије показале да је између 4 и 20 пута већа доза карбоплатине довољна да индукује једнаке нивое ДНК платинације код третираних пацијената. Различита фармакокинетика карбоплатине у односу на цисплатину, посебно слабије везивање за протеине и дуже опстајање у плазми, сигурно су заслужни за овај ефекат, међутим остаје непознато да ли је то само њихов допринос [1].

**Недаплатина**, *cis*-диамин-гликолато платина(II), (Схема 3) [1], такође је мање токсична од цисплатине. Мијелотоксичност је ограничавајући фактор за терапијску дозу, примењује се инфузионо и има фармакокинетичке особине сличне карбоплатини. Слабије се везује за протеине у односу на цисплатину: око 80% лека опстаје у плазми 2,5<sup>h</sup> после



давања инфузијом. Излучује се уротропно, и то брже у односу на цисплатину (50% лека се елиминише у првих 8<sup>h</sup>). Примећено је да недаплатина испољава антитуморску активност према неким туморима тестиса, уринарног тракта, простате, главе, врата, материце и плућа. Антитуморска активност је слична цисплатини је уочена само код пацијената који су претходно лечени цисплатином [1,15].

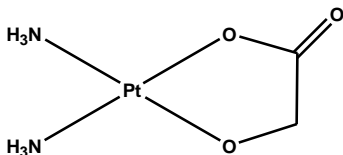


Схема 3. Структура недаплатине.

**Ипроплатина**, *cis*-дихлоро-*trans*-дихидроксис(изопропиламин)платина(IV), је први комплекс платине (IV) који је испитиван у клиничким студијама, међутим није показао предност у односу на карбоплатину у реаговању и преживљавању пацијената са узнапредовалим карциномом јајника [1].

### 1.1.3. Трећа генерација

Трећа генерација комплексних једињења платине развијена је са циљем да се превазиђе проблем са резистенцијом ћелија тумора према већ постојећим цитостатцима (цисплатина, карбоплатина, недаплатина) који се користе у клиничкој пракси. Природна резистенција многих малигнитета ограничава распон индикација за коришћење одређеног антитуморског агенса. С друге стране стечена резистенција умањује ефекат након поновљених третмана било за исту или другу туморску болест код истог пацијента. Постоје четири главна механизма резистенције (редукција уноса лека, повећана детоксикација глутатионом или металотионином, појачана поправка платиноване ДНК и појачана толеранција платиноване ДНК) [1]. Ови механизми су доста проучавани на

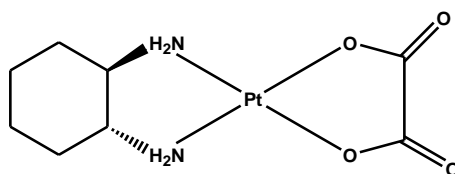
туморским ћелијама са стеченом резистенцијом при хроничном излагању цисплатини. Дошло се до сазнања да се два или више поменути механизма резистенције могу појавити истовремено, док није нађено да је један механизам резистенције нађен у свим ћелијама резистентним на цисплатину. Експериментима рађеним *in vivo* доказано је да је умерен а у неким случајевима чак и низак степен резистентности довољан да доведе до неуспеха у лечењу [1].

Поред великог напора да се синтетише једињење платине које нема унакрсну резистенцију са цисплатином и/или карбоплатином до сада је само оксалиплатина показала клиничку активност према туморима који су природно резистентни на цисплатину (користи се код узнапредовалих колоректалних карцинома). То је допринело да се распон индикација за терапију базирану на платина лековима прошири [1]. Постоје комплекси платине треће генерације (нпр. ормплатина-тетраплатина) која имају доказану антитуморску активност према појединим врстама карцинома али, нажалост њихова клиничка примена није могућа првенствено због неуротоксичности [16].

Оксалиплатина,  $[PtCl_2(dach)]$  и ормаплатина (тетраплатина),  $[PtCl_4(dach)]$  су комплекси платине који садрже одлазећи лиганд 1,2-диамино-циклохексан (*dach*). *Cis*-дихлоро(1,2-диаминоциклохексан)платина(II) сматра се пионирским комплексом платине који садржи *dach* лиганд. На експерименталним моделима тумора поменуто једињење је показало антитуморску активност. Међутим салаба растворљивост у води, спречавала је интравенску примену, а поред тога показало се да је његова антитуморска активност слабија од цисплатине. У покушају да се реше ови проблеми, истраживања су била усмерена у правцу развоја деривата са повећаном растворљивости у води и стабилним одлазећим групама (лигандима) [1]. Истраживањима *in vivo* доказано је да комплекси платине који садрже *dach* лиганд не показују унакрсну резистенцију са цисплатином, као и да је и спектар активности ове групе једињења различит од цисплатине и карбоплатине. Сви комплекси платине са *dach* лигандом који су „стигли“ до клиничке праксе или клиничких испитивања, садрже најактивнији *trans-R,R-dach* изомер. Њихова потенцијална предност је умањена због откривене неуротоксичности, која представља ограничавајући фактор за дозирање [1].

Механизми резистенције на цисплатину не могу да се користе за објашњење зашто комплекси платине који садрже *dach* лиганд немају унакрсну резистенцију са цисплатином. Покушај да се овај феномен објасни преко диференцијалне апсорпције која је запажена код неких ћелија тумора, није дао резултате. Разлог лежи у чињеници да неке туморске ћелије са стеченом резистенцијом на цисплатину акумулирају комплексе платине који садрже *dach* (нпр. оксалиплатина и ормплатина) у мањој мери од цисплатине. Постоје докази о интрацелуларној инкорпорацији платине у ДНК. У интеракцији платине са ДНК, присуство волуминозног *dach* лиганда утиче на ДНК оштећења, али слабо утиче на саму интеракцију. Нису измењени ни брзина ни типови ни места адуката само се мења брзина конверзије монофункционалних у бифункционалне адукте, у поређењу са комплексима који садрже етилендиамин [1]. Присуство *dach* лиганда у комплексу чини платинске ДНК адукте више цитотоксичним што је у корелацији са јачим ометањем репликације ДНК [1].

**Оксалиплатина**, (*trans-R,R*-1,2-диаминоциклохексан)оксалато платина(II), (Схема 4) је први лек на бази платине који је показао клиничку активност према туморима који су примарно резистентни на цисплатину. Такође је и први лек на бази платине који садржи *dach* а који је одобрен за клиничку употребу у преко 60 држава. Примењује се код узнапредовалог колоректалног карцинома [1].

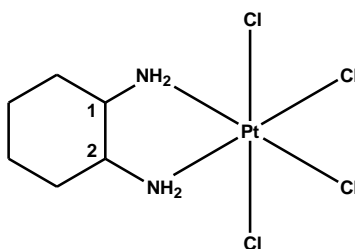


**Схема 4.** Структура оксалиплатине.

За разлику од цисплатине, оксалиплатина се не акумулира у плазми, већ у еритроцитима у највећој мери. Оксалиплатин има мању хематолошку токсичност у односу на карбоплатину при терапијским дозама као и мању нефротоксичност у односу на цисплатину. Овај лек проузрокује нежељене ефекте на гастроинтестиналном тракту

(мучнине и повраћање) који су били први лимитирајући фактори за дозирање. Гастроинтестинални проблеми решени су после успешно уведене профилаксе у виду примене антиеметика, тако да је било могуће терапијску дозу повећати до три пута. Даље повећање терапијске дозе је забрањено због неуротоксичности. Симптоми неуротоксичности изазване оксалиплатином повлаче се код већине пацијената између циклуса хемотерапије ако се ради о акутној, или након завршетка (прекида) терапије ако се ради о хроничној неуротоксичности, мада је опоравак спор и непотпун. Неуротоксичност је главни проблем који отежава клинички развој оксалиплатине [1, 17].

**Ормаплатина (тетраплатина)**, тетрахлоридо(*trans*-1,2-диаминоциклохексан) платина(IV), (Схема 5) је први комплекс платине (IV) са *dach* лигандом који је клинички испитиван. Поседује антитуморску активност, смањену нефротоксичност и мијелотоксичност у односу на цисплатину и карбоплатину али не и неуротоксичност [1].

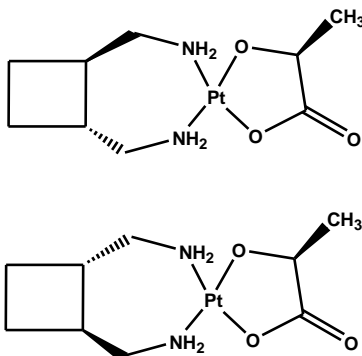


**Схема 5.** Структура ормплатине (тетраплатине).

Неуротоксичност ормаплатине је много јача чак и у поређењу са оксалиплатином. Овај феномен приписује се разлици у кинетици њихове биотрансформације. Биотрансформацијом оба лека настаје исти производ, дихлоридо(1,2-диаминоциклохексан) платина(II), али много брже и у вишим концентрацијамка у плазми после примене ормаплатине [1]. Висока неуротоксичност је главни разлог због чега су заустављена даља истраживања са ормаплатином [1].

**Лобаплатина**, (1,2-циклобутандиметанамин)[(2S)-2-хидроксипропанато(2-)-O1,O2] платина(II), (Схема 6) поседује нижу реактивност према изолованој ДНК у поређењу са цисплатином. Фармакокинетичке особине лобаплатине, слабо везивање за протеине и бржа уринарна екскреција у односу на карбоплатину. Антитуморска активност лобаплатине је доказана на пацијентима са карциномом јајника. Нежељена дејства током

терапије су: анемија, мучнина и повраћање. Нефротоксичност, неуротоксичност и ототоксичност су примећене и јављају се половином терапије. Док тромбоцитопенија лимитира тераписку дозу овог лека. Лобаплатина је добила регионално одобрење, користи се у Кини, док је њен развој у остатку света заустављен у III фази клиничких испитивања [1, 18].



**Схема 6.** Структура лобаплатине (оба изомера).

**Сатраплатина**, *bis*(ацетато)аминдихлорид(циклохексиламин) платина(IV), (Схема 7) је први лек на бази платине предвиђен за оралну примену и клинички испитиван (налази се у III фази клиничких испитивања). Добро се раствара у води, стабилан је у киселом раствору и поседује већу липофилност него цисплатина. Поседује антитуморску активност према неким врстама карцинома плућа и простате, сличну карбоплатини (примењене интравенски). Већа интестинална апсорпција у односу на карбоплатину и интраперитонеална у односу на цисплатину иду у прилог његовог потенцијала као оралног лека. Сатраплатина се акумулира у плазми после вишедневне (5-14 дана) оралне примене што упућује да дозу треба додатно подешавати. Треба имати у виду да терапијску дозу лимитира првенствено тромбоцитопенија и леукопенија. У токсиколошки профил још су укључене нефротоксичност и неуротоксичност које су слабије изражене. Нежељена дејства у виду мучнине и повраћања су такође слабије изражена [1, 19, 20].

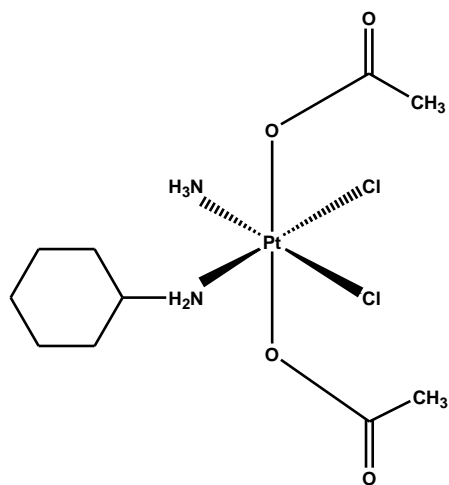
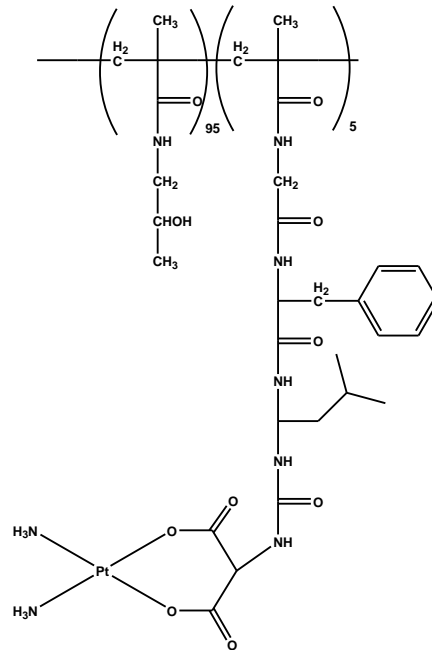


Схема 7. Структура сатраплатине.

#### 1.1.4. Четврта генерација

Циљ развоја четврте генерације платина лекова је добијање агенса са антитуморском активношћу ширег спектра, селективног дејства на туморско ткиво и смањеном инциденцом мијелотоксичности, ототоксичности, нефротоксичности, неуротоксичности, кардиотоксичности и других нежељених дејстава (мучнина, гађење повраћање, алопеција) [21].

**AP5280** је полимер платине (II) (Схема 8) дизајниран да повећа терапијски индекс у односу на конвенционалне платина лекове. После интравенске примене AP5280 остаје неактиван у плазми, акумулира се у туморима због повећане капиларне пропустљивости. Након тога преко протеазе долази до цитотоксичне форме. Антитуморска активност је доказана на туморским моделима плућа и јајника. Максимална дозвољена доза је шест пута већа од карбоплатине *in vivo*. Токсичност која се јавља при терапији са цисплатином, карбоплатином и оксалиплатином при терапији са AP5280 слабије је изражена. Док су нежељена дејства у виду мучнине и повраћања изражена [22,23].



**Схема 8.** Структура AP5280.

До сада је синтетизовано око 3000 различитих комплексних једињења платине са циљем да се побољша антитуморска активност, смањи токсичност, превазиђе резистенција на конвенционалне цитостатике. Међутим, само мали број комплекса је клинички испитиван док је а само пар је одобрено за клиничку примену. Платина (IV) комплекси антитуморски потенцијал, нпр., комплекси платине (IV) са лигандима који су деривати етилен-диаминa поседују антитуморску активност према ћелијама карцинома јајника, јер изазивају некрозу туморских ћелија. Интереснатно је истаћи да је антитуморска активност платине (IV) комплекса са лигандимом попут етилен-диаминa слабија у односу на оне који садрже *dach* лиганд [24-26].

## 1.2. Физиолошка функција срца и кардиоваскуларног система

### 1.2.1. Кардиоваскуларни систем и коронарна циркулација

Кардиоваскуларни систем код сисара чине: крвни судови, крв и срце. Кардиоваскуларни систем је затвореног типа и има улогу транспорта материја у организму. Њиме се транспортују: кисеоник, угљендиоксид, храљиве материје, метаболичке материје, хормони и топлота. Кардиоваскуларни систем има улогу у размени материјала са циљем да обезбеди опстанак организма. Размена материја може бити између ћелија једног система, као и између ћелија једног система и спољашње средине. Крв се под нормалним околностима кроз крвне судове креће увек у једном и истом правцу. Циркулација крви је неопходна за живот, што значи да све компоненте које чине кардиоваскуларни систем морају да функционишу беспрекорно сваког тренутка. Кретање крви кроз систем крвних судова омогућава срчани рад правилног ритма и еластичност крвних судова [27-29].

Срце је централни орган кардиоваскуларног система. Оно је шупљи мишићни орган који има улогу пумпе, јер се ритмички контрахује што изазива континуирано кретање крви кроз велики и мали крвоток.

С обзиром на то да срце непрестано ради, веома је битно да стално буде снабдевено довољном количином крви. Срце не може исхрањивати крв која се налази у коморама или предкоморама зато што она припада функционалном крвотоку. Из тог разлога срце поседује посебан крвоток или срчану (коронарну) циркулацију. 5-10% крви која чини минутни волумен отпада на коронарну циркулацију. При најтежим физичким активностима коронарни проток се повећава и до пет пута [27-29].

Коронарну циркулацију чини артеријски и венски систем крвних судова. Коронарни артеријски систем чине две артерије, лева (*a. coronaria sinistra*) и десна (*a. coronaria dextra*). Ове артерије полазе од аорте и проводе крв кроз срчани мишић. Лева срчана артерија исхрањује леву преткомору и леву комору, предњи папиларни мишић у десној комори, мали део десне коморе, плућни конус, део срчане преграде и предњи зид



десне коморе. Десна срчана артерија исхрањује десну преткомору и комору, сино-атријални чвор, задњи део срчане преграде, задњи папиларни мишић у левој комори и задњу страну леве коморе, као и булбус аорте. Венски коронарни систем завршава се коронарним синусом који се улива у десну предкомору [30,31]. Нормална коронарна циркулација је главни преуслов за правилан и несметан рад срца.

### 1.2.2. Срчани циклус

Срчани циклус чине две фазе: фаза контракције срца (систола) и фаза деконтракције срца (дијастола). Током систоле контрахују се коморе. Када притисак у комори надјача притисак у преткомори и васкуларном систему том приликом *AV* залистак се затвара, док се плућни и аортни залиски отварају и крв отиче у плућно стабло и аорту. Нормалан притисак у аорти током систоле износи 120mmHg. У току дијастоле оксигенисана крв из плућа путем плућних вена стиже у леву преткомору, док преко доње и горње шупље вене дезоксигенисана крв стиже са периферије у десну преткомору. Током овог периода *AV* залистак је отворен и омогућава пролазак крви из преткоморе у комору. На крају дијастоле преткомора се контрахује и истискује крв у комору. Током дијастоле, притисак износи 70mmHg [32-34].

Трајање једне систоле и једне дијастоле чини срчани циклус који укупно траје 0,8 s. При сваком срчаном циклусу из леве коморе испумпа се количина крви која се назива **ударни или систолни волумен**. Производ ударног волумена и фреквенције срца чини **минутни волумен**. Количник ударног волумена и вентрикуло-дијастолног волумена (*VEDV*) представља **ејекциону фракцију (*EF*)** која под нормалним физиолошким околностима износи 60-80%. Њено смањење указује на оштећење срчаног мишића и слабију контрактилност [29,32-34].

Спроводни систем срца контролише срчани циклус, који започиње стварањем електричног импулса који се спроводи до срца и утиче да се прво контрахују обе преткоморе, а потом и обе коморе [35].

### 1.2.3. Контрактилност срца

Прво, најједноставније објашњење појма „контрактилност“ је да је то способност скраћивања срчаних мишићних влакана под утицајем надражаја. Миокард чини мноштво мишићних влакана чијом контракцијом и релаксацијом се генерише срчани рад као пумпе.

**Хемодинамски аспект**, контрактилност (инотропност) срца објашњава као способност срца да генерише силу потребну за избацавање ударног волумена срца задатог претходним оптерећењем (*preload*) тј. вентрикуло-дијастолним волуменом (*VEDV*) и накнадним оптерећењем (*afterload*), односно артеријским притиском које срце ејекцијом мора савладати. Контрактилност је битан елемент који детерминише срчану функцију. Промене контрактилности срца производе значајне промене у величини ејекционе фракције. Повећање контрактилности води ка повећању ејекционе фракције и обратно. Ово је нарочито значајно у току физичке активности, јер омогућава одржавање вредности ударног волумена у условима повећане фреквенце срца. Убрзани рад срца смањује ударни волумен због скраћеног пуњења коморе у току дијастоле, што смањује енд-дијастолни волумен. Повећањем снаге срца, *VEDV* се смањује, што омогућава одржавање ударног волумена [29,36].

Најважнији механизам регулисања инотропности срца је аутономни нервни систем. Симпатикус има позитивно инотропно дејство на миокард преткомора и комора, док парасимпатикус (*n. vagus*) делује негативно на контрактилност преткомора. Многи ејекциони параметри коришћени су за описивање контрактилне функције срца. Већина фактора зависи од хемодинамских услова пуњења леве коморе.  $LV(dP/dt)_{\max}$  (од енгл.- *Maximum rate of left ventricular pressure development*) је променљива која се користи у експерименталним и клиничким испитивањима за процену контрактилне функције леве коморе.  $LV(dP/dt)_{\max}$  је условљен је претходним оптерећењем, али је релативно независтан од накнадног оптерећења. У зависности од хемодинамских услова пуњења срца, анализа промена  $LV(dP/dt)_{\max}$  може се користити за процену индивидуалне функционалне резерве срца [37,38].

**Ћелијско-молекуларни аспект** контрактилност одређује силом генерисаном у миозинским попречним мостовима и способношћу скраћивања саркомера. Миокард чини мноштво мишићних влакана која се састоје од специфичних срчаних контрактилних протеина (актина и миозина) и регулаторног протеина (тропонина). Такође ова влакна садрже различите ензиме који су од виталног значаја за преузимање енергије (креатин киназа и лактат дехидрогеназа). Велики утицај на рад срца имају минералне материје (калцијум и калцијум) и хормони (адреналин и тироксин). За разлику од скелетних мишића где постоји просторна сумација моторних јединица у генерисању силе при контракцији, у срчаном мишићу тесне везе обезбеђују низак електрични отпор и лако преношење акционог потенцијала са једне на другу ћелију. Дакле, под физиолошким условима промена контрактилности појединих срчаних миоцита се директно огледа у функцији срца као пумпе. Промена броја реактивних места између актина и миозина је основа фазне контроле контрактилности миокарда, коју описује *Frank-Starling*-ов закон. Кинетика и способност реакције попречних мостова са танким актинским филаментима регулисана је дејством регулаторних протеина. Најзначајнији је механизам који укључује регулаторни миозински лаки ланац (*MLC2*) и миозин везујући протеин *C* (*MyBP-C*) који интерагују са полугама попречних мостова и регулишу њихово кретање у односу на осовину миозинских влакана. Срчани тропонин *T* и тропонин *I* су срчани регулаторни протеини који контролишу концентрацију калцијума посредно преко актина и миозина. Тропонин *I* је протеин који се налази једино у миокарду док је тропонин *T* нађен у малој концентрацији у скелетним мишићима. Већа концентрација срчаног тропонина служи као индикатор за оштећења миокарда код пацијената са болом у грудима [36,39-41]. Повећана концентрација калцијума делује стимулативно на рад срца. Са друге стране повећана концентрација калијума делује инхибиторно на рад срца [41]. Креатин киназа (*CK*) или креатин фосфокиназа (*CPK*) је ензим који катализира реакцију креатин и аденозин трифосфата (*ATP*) при чему настаје креатин-фосфат и аденозин дифосфат (*ADP*). У ткивима која брзо троше енергију, фосфокреатин служи као брзи извор за регенерацију *ATP*-а, па је креатин киназа врло важан ензим за то ткиво. Креатин киназа у крви у повишеним концентрацијама може бити индикатор инфаркта миокарда [42]. Велики утицај на рад срца имају и хормони. Од хормона за рад срца нарочито су важни адреналин и тироксин који имају позитивно инотропно дејство [43].

Различите супстанце могу да модификују хуморалну регулацију коронарне циркулације [44]. Међу домаћим истраживањима која су се бавила овом проблематиком проучавани су нпр: повезаност хомоцистеина са кардиоваскуларним болестима [45,46], ефекти специфичних инхибитора фосфодиестеразе на оксидативни стрес током коронарне ауторегулације на изолованом срцу пацова [89], ефекти једињења паладијума на изолованом срцу пацова [48].

### 1.3. Кардиотоксичност једињења платине која се користе у биомедицини

Кардиотоксичности је честа компликација при коришћењу многих антитуморских агенаса и то је једно од главних ограничења у коришћењу ових лекова. Они могу снажно да утичу на квалитет живота и укупно преживљавање пацијената на којима се примењују, без обзира на онколошку прогнозу. Оштећења миокарда изазвана антитуморским лековима обично су ирверзибилна [49].

Због све већег броја онколошких пацијената чији третман захтева хемиотерапију, уводе се нови агенси који се користе и у комбинованој терапији са циљем да се повећа доза датог лека, међутим то са друге стране повећава учесталост кардиотоксичности [49].

Кардиотоксичност одређују генетски и фактори животне средине. Наследни фактор, старост, пол, исхрана, стресне ситуације, аритмије, претходне медицинске интервенције или терапија су повезани са додатним ризиком за развој кардиотоксичности [50,51]. Кардиотоксичност обухвата хетерогену групу поремећаја, од релативно бенигних аритмија па до потенцијално смртоносних као што су инфаркт миокарда и исхемије. Ови ефекти се могу јавити током или непосредно након третмана, а некад се могу јавити и неколико месеци или година након третмана [52,53].

У односу на време испољавања кардиотоксичност се може поделити на акутну, субакутну и хроничну. **Акутна** кардиотоксичност се испољава у току саме примене лека или неколико сати или дана након тога. Најчешће се манифестује у виду различитих поремећаја ритма који су махом реверзибилни. Сматра се да акутна кардиотоксичност не захтева никакву посебну терапију. **Субакутна** кардиотоксичност испољава се неколико

дана или недеља након примене кардиотоксичних лекова. Манифестује се најчешће са миокардним едемима и реверзибилном дисфункцијом миокарда. **Хронична** или касна кардиотоксичност се углавном испољава у виду хроничне конгестивне инсуфицијенције миокарда. Вишегодишње праћење и искуство у лечењу кардиолошких компликација насталих услед терапије цитостатицима је показало да на основу појаве клиничких симптома могу да се разликују два подтипа хроничне кардиотоксичности. Тип I који се јавља у року од годину дана након завршетка хемијотерапије, карактерише га деструкција односно иреверзибилно оштедење миокарда. Тип II који се јавља после више од годину дана након завршетка хемиотерапије, он је реверзибилан и карактерише га дисфункција миокарда [54-56].

Конвенционални цитостатици међу које спада и цисплатина су кардиотоксични, њихова кардиотоксичност је иреверзибилна јер је повезана са смрћу миоцита [57,58]. Аритмије, артеријска хипертензија и кардиоваскуларна дисфункција су најчешћи кардиоваскуларни поремећаји при терапији са антитуморским лековима новијих генерација. Ови поремећаји су бенигни и најчешће реверзибилни [57,58].

Превенција кардиотоксичности је важна мера приликом лечења онколошких пацијената хемиотерапијом. Ова мера обухвата: праћење срчаних функција, ограничење хемиотерапијске дозе, кад год је то могуће коришћење антитуморских лекова који нису кардиотоксични, правовремено дијагностиковање кардиоваскуларних поремећаја и коришћење кардиопротективних лекова [59].

Онколошки пацијенти који примају хемотерапију а код којих постоје предиспозиције за развој кардиоваскуларних болести захтевају исти терапијски приступ као кардиолошки пацијенти. Што указује да онколошки пацијенти захтевају мултидисциплинарни третман (онколога и кардиолога) како би се избегла нежељена кардиотоксичност приликом и након давања хемиотерапије. А то би била гаранција за оптималан наставак лечења [60].

#### 1.4. Улога оксидативног стреса у кардиотоксичности

Познато је да је оксидативни стрес, односно прекомерна производња реактивне врсте кисеоника (*ROS*) укључена у настанак и/или напредовање многих болести и поремећаја, укључујући кардиоваскуларне болести [61].

Оксидативни стрес настаје када дође до поремећаја равнотеже између прооксиданса и антиоксиданса, односно до стварања *ROS* и *RNS* или до недостатка антиоксидационе заштите. Равнотежа између корисних и штетних ефеката реактивних врста је важан аспект аеробних организама, а остварује се механизмом тзв. редокс-регулације. Овај процес штити организме од оксидативног стреса и одржава редокс-хомеостазу контролом редокс-статуса *in vivo* [62].

Реактивне врсте кисеоника се непрестано стварају у ћелијама које су изложене аеробној средини. Антиоксидациони системи су коеволуирали с аеробним метаболизмом како би спречили оксидационо оштећење помоћу *ROS*.

Реактивне врсте кисеоника и азота се у физиолошким условима стварају током нормалног ћелијског метаболизма у разним биохемијским реакцијама. За обе врсте је доказано да могу да испољавају корисне и штетне ефекте. Створене у малим концентрацијама, испољавају низ физиолошких улога, као што су одбрана од инфекција, пренос сигнала у ћелијама, имунорегулација, неуротрансмисија. Штетни ефекти *ROS* подразумевају биолошка оштећења која се јављају у условима оксидативног стреса [62].

Утврђено је да неки цитостатици генеришу реактивне врсте кисеоника код болесника током лечења карцинома. Слободни радикали посебно *ROS* може бити узрочник апоптозе, која зависи од тежине оксидативног стреса [63].

Срце је изложено оксидативном стресу који настаје као последица слободних радикала који су добијени током хемотерапије. Миокард се састоји од ћелија које имају ограничену способност регенерације, што може да доведе до привременог или трајног губитка (смањења) функција [52,53].

Сматра се да антрациклини оштећују ћелије срца путем стварања слободних радикала, тј. стимулацијом оксидационог стреса. Предложени механизам подразумева

најпре редукцију доксорубицина (доксорубицин прима један електрон од слободног радикала) при чему се гради доксорубицин семихинон радикал. Потом ово једињење улази у реакцију са гвожђем градећи антрациклин-гвожђе комплекс. Овај комплекс с обзиром на то да има један неспарен електрон се опет понаша као слободни радикал који је јако токсичан [64,65].

Поред тога, доксорубицин може да се веже за ендотелни азот-моноксид (NO) и тако да последично смањи биорасположивост (концентрацију) NO, а повећа продукцију супероксид анјон радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ) и пероксинитрита ( $ONOO^-$ ). Ово све заједно доводи до настанка липидне пероксидације (*TBARS*), повећаног оксидативног стреса и оштећења ћелија миокарда тј. кардиотоксичности [65-68].

## 2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

### 2.1. Циљеви

#### 2.1.1. Генерални циљ

Евалуација ефеката акутне администрације Pt(IV)-комплекса, калијум-тетрахлоро-платината (II), цисплатине, 1,2-диамино-циклохексана и етилен-диамина на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.

#### 2.1.2. Специфични циљеви

Испитати учешће различитих параметара оксидативног стреса (нитрита ( $\text{NO}_2^-$ ), супероксид анјон радикала ( $\text{O}_2^-$ ), липидних пероксида (*TBARS*) и водоник пероксида ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )) на кардиодинамске параметре срчаног рада и коронарну циркулацију.

### 2.2. Хипотезе

1. Акутна апликација Pt(IV)-комплекса, може имати штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.
2. Акутна апликација калијум-тетрахлоро-платината (II), може имати штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.
3. Акутна апликација цисплатине, може имати штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.
4. Акутна апликација 1,2-диамино-циклохексана, може имати штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.
5. Акутна апликација етилен-диамина, може имати штетно дејство на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.



### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

#### 3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Експериментална студија на материјалу анималног порекла *in vitro*.

Експерименти су рађени у складу са Директивом ЕУ о заштити кичмењака који се користе за експерименталне и друге научне сврхе 86/609/ЕЕС (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC*) и принципима етичности.

Експериментална истраживања на изолованом срцу пацова вршена су према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по Лангендорф-у (*Langendorff*).

##### 3.1.1. Метода ретроградне перфузије изолованог срца по Лангендорф-у

Лангендорфов модел изолованог срца има две могућности, у зависности од константног и променљивог параметра.

1. Перфузија изолованог срца при константном притиску у коронарном васкуларном кориту (коронарни проток је променљиви параметар);
2. Перфузија изолованог срца при константном протоку кроз коронарно васкуларно корито (притисак је променљиви параметар) [69].

Код првог експерименталног модела притисак је константан параметар, задат посебним системом цеви по моделу спојених судова, док се проток одређује флоуметријски.

Код другог експерименталног модела проток је константан параметар и задаје се преко инфузионе пумпе, док се притисак региструје преносом са врха срца до писача путем система преносника (*transducer*).

У оба експериментална модела реч је о средњој вредности променљивог параметра, с обзиром да се апсолутне вредности не могу третирати као поуздане. Узрок томе су специфичности самог срчаног рада: понављање срчаних циклуса, променљива фреквенца, различито трајање систоле и дијастоле срца, итд. Због тога се променљиви параметар одређује као средња вредност регистрованих вредности параметра у току 5 минута.

У овом нашем истраживању користили смо прву варијанту експерименталног модела. Перфузија изолованог срца при константном протоку користи инфузиону пумпу за одржавање овог параметра константним, док се притисак региструје преносом са врха срца до писача путем система преносника (*transducer*). Код овог модела је константан притисак задат посебним системом цеви по моделу спојених судова, док се проток одређује флуометријски. Како се у интактној циркулацији тежи одржању константног средњег притиска, са физиолошке тачке гледишта, овај модел има предност [69].

Однос притиска и протока у овом моделу изражен је следећом једначином:

$$\frac{p = const.}{protok} \cong \frac{1}{radijus^4}$$

Модификовани апарат по Лангедорф-у (*LF-11-LF01 F-P, Perfusion systems for isolated, small mammalian hearts according to Langendorff, Experimetria LTD Budapest, Hungary*; Слика 1) састоји се од:

1. Система две вертикалне стаклене цеви, исте висине, при чему се цев мањег промера налази у цеви већег промера. Загрејана дестилована вода у воденом купатилу убацује се путем бочних цеви и система црева у цев већег промера (између поменутих цеви) и на тај начин се до 37°C загрева раствор у цеви мањег промера. У цев мањег промера, методом негативног притиска убацује се *Krebs-Hensenleit*-ов раствор, који има сличне особине као екстрацелуларна течност. Цев мањег промера се завршава канилом, на коју се поставља препатат изолованог срца.
2. Резервоара чија је запремина 4 l, у коме се налази *Krebs-Hensenleit*-ов раствор, резервоар је спојен са унутрашњом цеви мањег промера и боцом са смешом гасова O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>.

3. Боце са смешом гасова у односу  $O_2:CO_2=95\%:5\%$ . Примена гаса под притиском има двојако дејство: постићи физиолошки ниво парцијалних притисака  $O_2$  и  $CO_2$  као у артеријској крви, и негативним притиском убацити раствор у систем цеви.
4. Каниле, која спаја изводну цев (цев мањег промера) система цеви и асцендентну аорту изолованог срца.
5. Воденог купатила, које загрева воду у спољашњој цеви. Топлота се затим преноси на раствор у ужој цеви, тако да на излазу из система раствор има температуру од  $37^{\circ}C$ .
6. Електростимулатора чије се електроде апликују на препарат изолованог срца у пределу срчаних предкомора, а то доводи до његовог регуларнијег рада.
7. Инфузионе пумпе, којом се жељени агенс администрира непосредно на споју каниле и асцендентне аорте. (у зависи од базалног коронарног протока).
8. Сензора – трансдјусера који су повезани са рачунаром.
9. Рачунара посебно прилагођеног за рад на овом апарату.



Слика 1. Модификовани апарат по *Langendorff*-у

***Састав Krebs-Henseleit-овог перфузионог раствора (pH 7,4) у mmol/l:***

Натријум-хлорид (NaCl, 118,1), калијум-хлорид (KCl, 4,7), калцијум-хлорид дихидрат ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ , 2,52), магнезијум-сулфат хептахидрат ( $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ , 1,66), калијум-дихидроген фосфат ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,18), натријум-бикарбонат ( $\text{NaHCO}_3$ , 24,88) и глюкоза ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ , 5,55), *Sigma-Aldrich GmbH*.

### 3.1.2. Експериментални протокол

Након краткотрајне етарске наркозе, животиње се жртвују цервикалном дислокацијом. Непосредно после жртвовања ради се торакотомија чиме се омогућава комотан приступ срцу. Препарација срца врши се уз константно преливање хладним физиолошким раствором, како би се очувала виталност препарата. Након тога се срце ослобађа од перикарда и пресецају се велики крвни судови базе срца, изузев асцендентне аорте кроз коју се врши ретроградна перфузија. Препарирано срце се ставља у посуду са леденим физиолошким раствором (-4 до -10°C) да би се смањили метаболички захтеви миокарда.

Након препарације срца, приступа се постављању срца на *Langendorff*-ов апарат убацивањем каниле у асцендентну аорту, затим се причврсти концем и повезује са систем цеви кроз који тече на 37°C загрејани *Krebs-Hensenleit*-ов раствор којим се перфундује срце. Перфузијом се обезбеђује аутономан рад срца који може да траје између 150 и 180 минута.

Процедура препарације и постављања срца на апарат траје највише 2-3 минута, како би се очувала виталност препарата.

Након успостављања ауторегулације срчаног рада, кроз направљен отвор на левој преткомори пресеца се митрална валвула чиме се омогућава увођење сензора (*transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) у леву комору који служи за регистровање кардиодинамских параметара.

Све експерименталне групе подвргнуте су стабилизацији протока до 30 минута при константном коронарном перфузионом притиску од 70 cmH<sub>2</sub>O. Након стабилизације, на експерименталним групама вршена је перфузија испитиваних супстанци у трајању од 30 минута по дози. Коронарни венски ефлуент сакупљан је на крају сваке примењене концентрације раствора и у њему су одређивани параметри оксидативног стреса и ензими некрозе миокарда.

### 3.1.3. Експерименталне групе

Истраживање је било подељено у седам (7) експерименталних група:

- I. Контролна група (перфузија комплексним *Krebs-Hensenleit*-овим физиолошким раствором).
- II. Перфузија раствором тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекса ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).
- III. Перфузија раствором тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекса ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).
- IV. Перфузија раствором калијум-тетрахлороплатината(II) ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).
- V. Перфузија раствором цисплатине ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).
- VI. Перфузија раствором етилен-диамина ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).
- VII. Перфузија раствором 1,2-диамино-циклохексана ( $10^{-4}$ - $10^{-8} mol/l$ ).

Наведена једињења су перфундована у следећим (растућим) концентрацијама:

а)  $10^{-8} mol/l$ : 34 nM цисплатина, 22 nM [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], 25 nM [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], 23 nM K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], 166 nM en, 88 nM dach; б)  $10^{-7} mol/l$ : 340 nM цисплатина, 220 nM [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], 250 nM [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], 230 nM K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], 1660 nM en, 880 nM dach; в)  $10^{-6} mol/l$ : 3400 nM цисплатина, 2200 nM [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], 2500 nM [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], 2300 nM K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], 16600 nM en, 8800 nM dach; г)  $10^{-5} mol/l$ : 34000 nM цисплатина, 22000 nM [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], 25000 nM [Pt(en)Cl<sub>4</sub>]; 23000 nM K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], 166000 nM en, 88000 nM dach; д)  $10^{-4} mol/l$ : 340000 nM цисплатина, 220000 nM [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], 250000 nM [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], 230000 nM K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], 1660000 nM en, 880000 nM dach.

Познато је да цисплатина индукује кардиотоксичност у примењеној дози од  $10^{-6} M$  [70]. На основу наведене чињенице, изабрали смо две дозе изнад ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5} M$ ) и испод ( $10^{-7}$ ,  $10^{-8} M$ ) концентрационог опсега кардиотоксичне дозе. Такође, овај концентрациони опсег је примењен по угледу на већ претходно изведено истраживање са комплексима паладијума [48].

### 3.2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ

Истраживање је обухватило (12 животиња у групи) 84 пацова (Вистар албино сој, мушки пол, старости 8 недеља, телесне масе  $250 \pm 30$  g). Животиње су набављане са фарме експерименталних животиња Војномедицинске академије (ВМА), Република Србија. Животиње су набављане 7-10 дана пре обављања експеримената због адаптације животиња на нову средину. У периоду адаптације животиње су чуване у металним кавезима, стандардних димензија. У просторији у којој су били смештени кавези, зоохемијски и микроклиматски услови у потпуности одговарају стандардима. Кавези су били смештени у просторију у којој су зоохемијски и микроклиматски услови који у потпуности одговарају стандардима. Животиње су храњене брикетима, смешом за исхрану лабораторијских животиња, стандардног сировинског и хигијенског састава.

### 3.3. ИСПИТИВАНЕ СУПСТАНЦЕ

Цисплатина (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], Cl<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>Pt), Mr 300,05; калијум-тетрахлороплатинат (II) (K<sub>2</sub>[Pt(Cl)<sub>4</sub>], Cl<sub>4</sub>K<sub>2</sub>Pt), Mr 415,09; етилен-диамин (C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>),  $\rho = 0,899$  gcm<sup>-3</sup> (на 25 °C), Mr 60,10; 1,2-диамино-циклохексан (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>), Mr 114,19, *Sigma-Aldrich GmbH*.

Синтеза и карактеризација Pt(IV) комплекса је урађена на Институту за Хемију, Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, према *Kepler et al* [71]. Све хемикалије и растварачи потребни за синтезу комплекса били су *p.a.* степена чистоће.

### 3.3.1. Тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекс, [PtCl<sub>4</sub>(en)]

**Синтеза.** Комплекс [PtCl<sub>2</sub>(en)] (0,059 g, 0,180 mmol) је растворен у 0,1 М NaCl на  $pH = 2$  (0,01 М HCl), а затим је додато 5 cm<sup>3</sup> 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Тако добијена смеша је мешана на собној температури 30 минута, а затим је рефлуктована 10 минута уз загревање. После хлађења, суспензија је процеђена кроз *Millipore* филтере. Добијени талог жуте боје је испран етанолом и етром и остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,046 g (64 %).

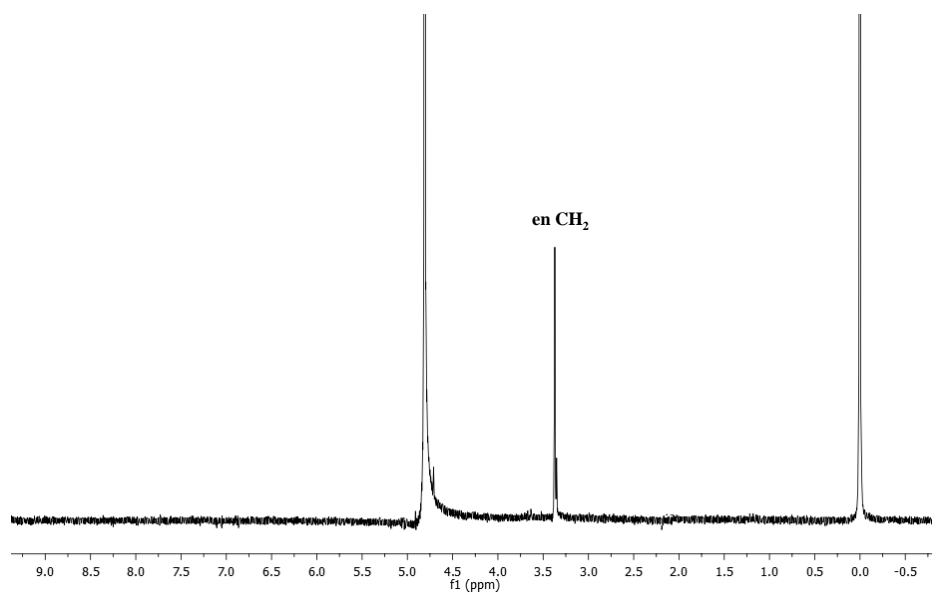
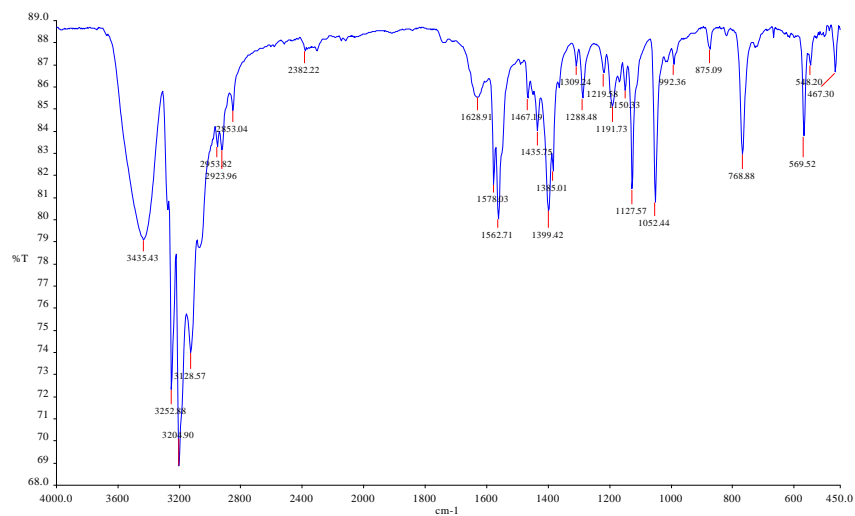
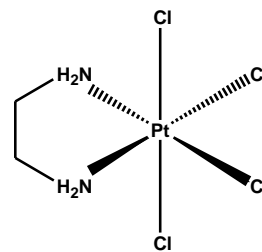
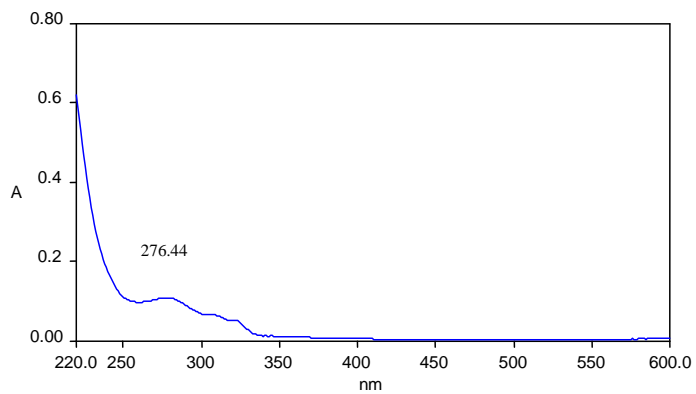
**Карактеризација.** Резултати микроанализе (C,H,N-анализе) (%) израчунато за C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Pt (397 g/mol): C 6,04; H 2,02; N 7,06; Нађено: C 5,92; H 1,82; N 6,97. <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  (ppm) = 3,37 (s, 4H, <sup>en</sup>CH<sub>2</sub>). IR(KBr)/cm<sup>-1</sup> = 3128–3435  $\nu_{N-H}$ , 2853–2923  $\nu_{C-H}$ , 1127  $\nu_{C-C}$ , 1052–1467  $\nu_{C-N}$ , 768  $\nu_{Pt-N}$ . UV/Vis  $\lambda_{max}$  (nm) = 276,44.

### 3.3.2. Тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекс, [PtCl<sub>4</sub>(dach)]

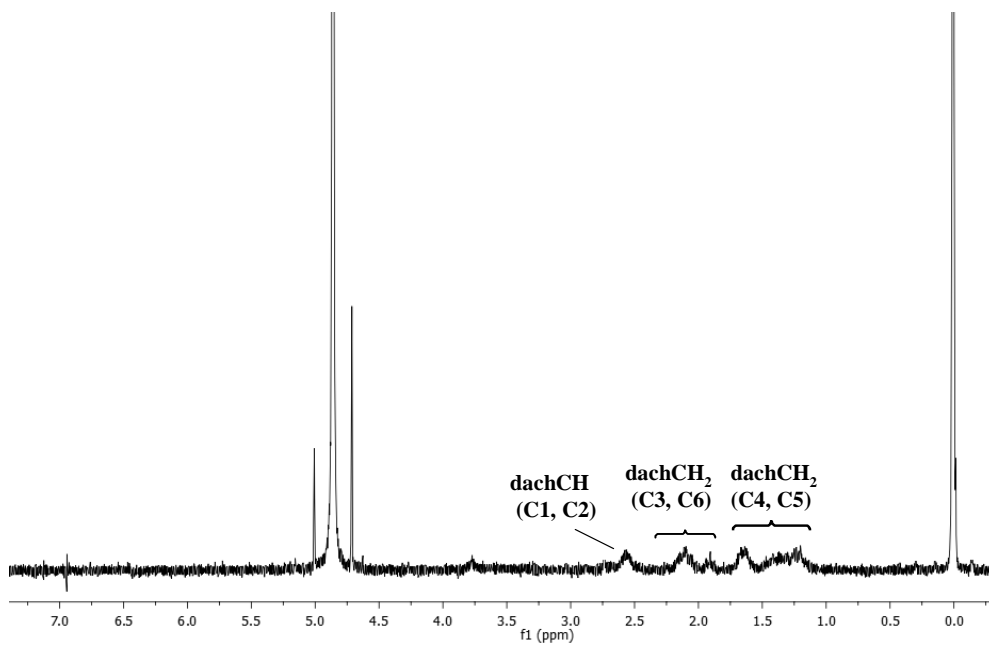
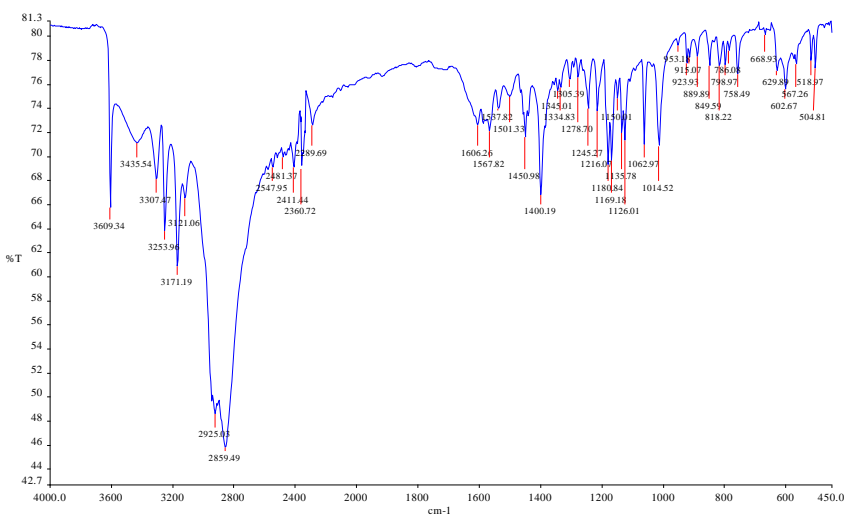
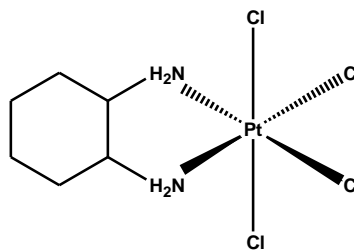
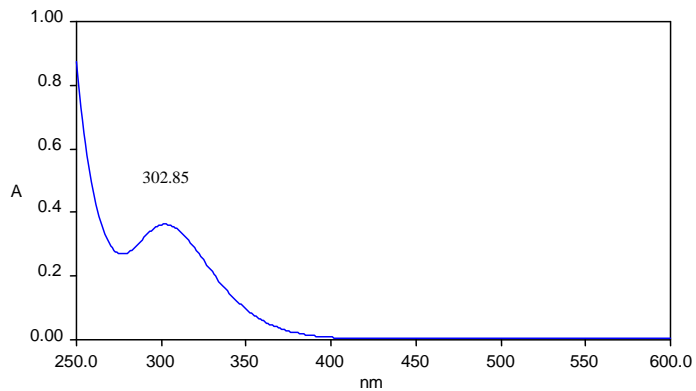
**Синтеза.** Комплекс [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (0,068 g, 0,179 mmol) је растворен у 0,1 М NaCl на  $pH = 2$  (0,01 М HCl), а затим је додато 5 cm<sup>3</sup> 30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Тако добијена смеша је мешана на собној температури 30 минута, а затим је рефлуктована 10 минута уз загревање. После хлађења, суспензија је процеђена кроз *Millipore* филтере. Добијени талог жуте боје је испран етанолом и етром и остављен да се суши на ваздуху. Принос: 0,065 g (82 %).

**Карактеризација.** Резултати микроанализе (C,H,N-анализе) (%) израчунато за C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Pt (451 g/mol): C 15,98; H 3,13; N 6,21; Нађено: C 15,68; H 3,11; N, 6,18. <sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta$  (ppm) = 1,23–1,63 (m, 4H, H<sub>4,5</sub><sub>dach</sub>); 1,76–2,08 (m, 4H, H<sub>3,6</sub><sub>dach</sub>); 2,45–2,61 (m, 2H, H<sub>1,2</sub><sub>dach</sub>). IR(KBr)/cm<sup>-1</sup> = 3171–3435  $\nu_{N-H}$ , 2859–2925  $\nu_{C-H}$ , 1126  $\nu_{C-C}$ , 1000–1400  $\nu_{C-N}$ , 800–1060  $\nu_{C-H(N)}$ , 758  $\nu_{Pt-N}$ . UV/Vis  $\lambda_{max}$  (nm) = 302,85.





Структура, UV-Vis, IR и <sup>1</sup>H NMR спектр комплекса [PtCl<sub>4</sub>(en)]



Структура, UV-Vis, IR и  $^1H$  NMR спектар комплекса  $[PtCl_4(dach)]$

### 3.4. КАРДИОДИНАМСКИ ПАРАМЕТРИ

Софтвер коришћен за праћење кардиодинамских параметара је *SPEL Advanced Haemosys software v. 3.24 (Experimetria LTD Budapest, Hungary)*. Баждарење апарата врши се на следећи начин: 1. Потребно је поставити оба сензора (сензор за перфузиони притисак и сензор за леву комору) тако да буду у нивоу постављеног изолованог срца и избацити ваздух из њих да не би сметао; 2. Коришћењем наведеног софтверског програма за сваки канал мерења подесити вредности: нивоа калибрације (*Calibration level*), доњи ниво на 0, горњи ниво на 100; распона калибрације (*Scope Full Scale*) доњи ниво на 0, горњи ниво на 150 (за све параметре осим за *DLVP*, где су вредности за доњи ниво на 5, горњи ниво на 20). Увек се прво подешава доњи ниво, а затим горњи ниво вредности. Сензитивност се поставља на 1.

Сви кардиодинамски параметри су континуирано мерени, при чему су за статистичку обраду података коришћене репрезентативне вредности на почетку и на крају перфузије сваке од примењених доза. У свим експерименталним групама регистровани су следећи кардиодинамски параметри:

а) **Фреквенца срца** - *HR* (од енгл.- *Heart Rate*), изражава се као број откуцаја срца у минути (*bpm*).

б) **Контрактилност срца**: максимална стопа промене притиска у левој комори -  $LV(dP/dt)_{\max}$  (од енгл.- *maximum rate of left ventricular pressure development*) и минимална стопа промене притиска у левој комори -  $LV(dP/dt)_{\min}$  (од енгл.- *maximum rate of left ventricular pressure development*).  $LV(dP/dt)_{\max}$  нам омогућава да индиректно одредимо контрактилну силу миокарда, односно инотропни ефекат, тиме и систолну функцију срца.  $LV(dP/dt)_{\min}$  нам омогућава да индиректно одредимо способност миокарда да се релаксира, односно лузитропни ефекат, а следствено и дијастолну функцију срца. Праћењем ових параметра добијамо увид у комплетан срчани циклус (кардиодинамику) изолованог срца пацова. Вредности се изражавају у  $[mmHg\ s^{-1}]$ .

в) **Систолни притисак у левој комори - LVSP** (од енгл.- *left ventricular systolic pressure*), изражава се у [mmHg].

г) **Дијастолни притисак у левој комори - LVDP** (од енгл.- *left ventricular diastolic pressure*), изражава се у [mmHg].

д) **Коронарни проток - CF** (од енгл.- *Coronary flow*), одређује се флоуметријски, а изражава у [ $\text{ml min}^{-1}$ ].

### 3.5. БИОХЕМИЈСКИ ПАРАМЕТРИ

#### 3.5.1. Параметри оксидативног стреса

**Комплет реагенаса за спектрофотометријско одређивање азот монооксида (NO) у облику нитрита:** сулфанилна киселина (4-амино безенсулфонска киселина,  $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ ), Mr 173,19 Sigma; N-(1-нафтил)-етиленамин дихлорхидрат (NEDA,  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}$ ), Mr 259,18 Sigma; амонијум-хлорид ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), Mr 53,49 MERCK; Боракс ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$ ), Mr 381.4, Mallinckrodt Chemical Works; 85% орто-фосфорна киселина ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ),  $\rho=1,685 \text{ gcm}^{-3}$  Zorka; натријум-нитрит ( $\text{NaNO}_2$ ), Mr 69, MERCK.

**Комплет реагенаса за спектрофотометријско одређивање супероксидног анјон радикала ( $\text{O}_2^-$ ):** TRIS (Трис-(хидроксиметил)-аминометан,  $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ), Mr 121,14, MERCK; 37% хлороводонична киселина (HCl),  $\rho=1,19 \text{ gcm}^{-3}$ , Mr 36,5, MERCK;  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , Mr 372,24, MERCK; Нитротетразолијум-плаво хлорид (NBT,  $\text{C}_{40}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_{10}\text{O}_6$ ), Mr 817,6, Sigma Chemical Co.; Желатин, MERCK.

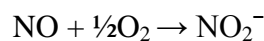
**Комплет реагенаса за спектрофотометријско одређивање водоник пероксида ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):** Калијум-хидрогенфосфат дихидрат ( $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ), Mr 210, Калијум-дихидрогенфосфат дихидрат ( $\text{KH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ), Mr 172, MERCK-ALKALOID;

Натријум-хлорид (NaCl), Mr 58,44 Zorka-Pharma; Фенол црвено (*Phenol red*, pH 6,8-yellow, pH 8,2-red), Mr 354,4 Sigma; Пероксидаза из рена (*horseradish peroxidaze*-HRPO, EC 1.11.1.7.), Sigma Chemical Co.; 30%-ни водоник пероксид (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Mr 34.01, 30g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/100g, Zorka-Pharma; D(+)-глюкоза монохидрат (декстроза, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>×H<sub>2</sub>O), Mr 198,17 MERCK.

**Комплет реагенса за спектрофотометријско одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS):** 2-тиобарбитурна киселина (ТВА, 4,6-дихидрокси-2-меркаптопиримидин, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S), Mr 144,15 MERCK; Натријум-хидроксид (NaOH), Mr 40, MERCK.

### 3.5.1.1. Одређивање азот-монооксида (NO) у облику нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

Количину ослобођених нитрита у коронарном венском ефлуенту одређиваћемо спектрофотометријском методом [72]. Како се у реакцији азот монооксида (NO) и кисеоника добија еквимоларна количина нитрита, количина ослобођених нитрита еквивалентна је количини ослобођеног азот монооксида:



Метода одређивања нитрита се заснива на употреби *Griess*-овог реагенса, који са нитритима гради диазо-комплекс, који је љубичасте боје. *Griess*-ов реагенс се добија мешањем једнаких запремина: 1% сулфанилне киселине, растворене у 5% орто-фосфорној киселини и 0,1% воденог раствора N-(1-нафтил)-етилендиамин дихлорхидрата (NEDA) (чува се у тамној бочици на 4°C због високе фотохемијске реактивности). *Griess*-ов реагенс се припрема *ex tempore*, непосредно пре извођења методе.

Амонијачни пуфер (pH=9), који се користи у сврху стабилизације диазо комплекса, добија се мешањем амонијум-хлорида (NH<sub>4</sub>Cl) и натријум-тетрабората (Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>) уз загревање (због слабе растворљивости натријум-тетрабората).

Биохемијски поступак: у епрувете (12 × 100) се пипетира 1 ml коронарног венског ефлуента, 250 µl *Griess*-овог реагенса и 125 µl амонијачног пуфера (pH=9). Као слепа проба користи се 1 ml *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Након стабилизације боје на собној

температури 5-10 минута, приступа се спектрофотометријском одређивању концентрације ослобођених нитрита на таласној дужини  $\lambda_{\max} = 550 \text{ nm}$ .

Концентрација ослобођених нитрита одређује се на основу калибрационе криве. Калибрациона крива је конструисана на основу екстинкција узорака, које су у себи садржале познату концентрацију нитрита, након њихове реакције са *Griess*-овим реагенсом у присуству пуфера. У четири епрувете се пипетира 3, 6, 12 и 24  $\mu\text{l}$  воденог раствора 1 mM  $\text{NaNO}_2$  у 1 ml *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Концентрације ослобођених нитрита ( $\text{nmol NO}_2^-/\text{ml}$ ) мере се спектрофотометријски на таласној дужини  $\lambda_{\max} = 550 \text{ nm}$ .

Концентрација, а затим количина ослобођених нитрита у коронарном венском ефлуенту добија се на основу:

1. Одређивања стандардног фактора (F):

Екстинкција стандарда – екстинкција слепе пробе

Концентрација  $\text{NaNO}_2$  у стандарду за сваки појединачни стандард (F1- F4), а затим добијањем њихове аритметичке средине.

2. Дељењем разлике екстинкција узорка и слепе пробе са стандардом F:

$$\text{nmol NO}_2/\text{ml ефлуента} = \Delta E (E_u - E_{sp})/F$$

3. Количина ослобођених нитрита по граму срчаног ткива одређује се по формули:

$$\text{nmol NO}_2/\text{minut/g wt} = \Delta E/F \times CF/m_{\text{heart}}$$

CF (*Coronary flow*) – коронарни проток.

### **3.5.1.2. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)**

Индекс липидне пероксидације у коронарном венском ефлуенту одређује се индиректно, преко проивода реакције липидне пероксидације са 2-тиобарбитурном киселином. Спектрофотометријска метода се заснива на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције малондиалдехида са тиобарбитурном киселином [73].

Биохемијски поступак: у епрувете ( $12 \times 100$ ) се пипетира  $800 \mu\text{l}$  коронарног венског ефлуента и  $200 \mu\text{l}$   $1\%$  ТВА у  $0,05 \text{ M}$  NaOH. Као слепа проба користи се еквивалентна количина *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Узорци се инкубирају у воденом купатилу  $15$  минута на  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ . Након инкубације и прилагођавања собној температури у узорцима се спектрофотометријски одређује *TBARS* на таласној дужини  $\lambda = 530 \text{ nm}$ .

Концентрација, а затим количина ослобођених *TBARS* у коронарном венском ефлуенту добија се у поступку:

1. Концентрација ослобођених *TBARS* добија се на основу једначине:

$$\text{nmol TBARS/ml ефлуента} = \Delta A (A_u - A_{sp}) / 1,56 \times 1,25$$

где је  $A_u$  – апсорбанца узорка,  $A_{sp}$  апсорбанца слепе пробе, док су  $1,56$  и  $1,25$  корекциони фактори за овај есеј.

2. Количина ослобођених *TBARS* по граму срчаног ткива одређује се једначином:

$$\text{nmol TBARS/минут/g wt} = \Delta A / 1,56 \times 1,25 \times \text{CF/m}_{\text{heart}}$$

При тумачењу резултата, треба имати у виду да ће се овим поступком ниво ослобођених *TBARS* изражавати у  $\mu\text{M}$ , док ће се количина осталих биохемијских параметара изражавати у  $\text{nM}$ . Разлог је у количини *TBARS*, која је за један ранг величина већа од свих осталих параметара. Ово је последица неспецифичности теста, јер он представља збир деловања читавог низа реактивних кисеоничних и азотних врста, а не појединачних молекула.

### 3.5.1.3. Одређивање супероксид анјон радикала ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )

Одређивање количине ослобођеног супероксид анјон радикала ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) у коронарном венском ефлуенту заснива се на редукцији нитро тетразолијум плавог (NBT) до нитроформаза плавог [74].

Есејна смеша (*assay mixture*) неопходна за одређивање количине супероксид анјон радикала садржи: 50 mM TRIS-HCl пуфера ( $pH=8,6$ ), 0,1 mM EDTA, 0,1 mg/ml желатина и 0,1 mM NBT. Пре употребе раствор се претходно гасира азотом под притиском у трајању од једног часа.

Биохемијски поступак: у епрувете ( $12 \times 100$ ) се пипетира 50  $\mu$ l коронарног венског ефлуента и 950  $\mu$ l есејне смеше. Као слепа проба користи се еквивалентна количина *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Екстинкција смеше се мери на самом почетку ( $E_1$ ), а затим на сваких 60 секунди након мешања смеше пластичним штапићем и стабилизације. (стабилизација подразумева две узастопне, приближно исте екстинкције). Последња екстинкција се означава као  $E_2$ . Мерење се врши у кварцним киветама запремине 1ml, на таласној дужини максималне апсорбције  $\lambda_{max} = 550$  nm.

Количина супероксид анјон радикала у коронарном венском ефлуенту добија се у поступку:

1. Концентрација ослобођеног  $O_2^{\cdot -}$  добија се на основу следећих једначина:

$$\Delta E_u = E_{2u} - E_{1u} \text{ (за узорак)}$$

$$\Delta E_{sp} = E_{2sp} - E_{1sp} \text{ (за слепу пробу)}$$

$$\Delta E = \Delta E_u - \Delta E_{sp}$$

$$\text{nmol } O_2^{\cdot -} / \text{ml} = \frac{\Delta E}{0.015} \times \frac{1}{0.05}$$

2. Количина ослобођеног  $O_2^{\cdot -}$  по граму срчаног ткива одређује се једначином:

$$\text{nmol } O_2^{\cdot -} / \text{ml} / \text{gwt} = \frac{\Delta E}{0.015} \times \frac{1}{0.05} \times \text{Flow} (\text{ml} / \text{min}) \times \frac{1}{m_{HEART}}$$

#### 3.5.1.4. Одређивање водоник пероксида ( $H_2O_2$ )

Одређивање количине водоник пероксида ( $H_2O_2$ ) заснива се на оксидацији фенол црвеног помоћу водоник пероксида, реакцији која је катализована ензимом пероксидаза из рена (*HorseRadishPerOxidase* - HRPO) [75]. Раствор фенол црвеног (*Phenol Red Solution* –



PRS) неопходан за ову биохемијску анализу прави се непосредно пре почетка рада мешањем 140 mM NaCl, 10 mM калијум фосфатног пуфера ( $pH = 7$ ), 5,5 mM D(+)-глукозе и 0,28 mM фенол црвеног.

Биохемијски поступак: у епрувете ( $12 \times 100$ ) се пипетира 200  $\mu$ l коронарног венског ефлуента и 800  $\mu$ l свеже направљеног раствора фенол црвеног (PRS). Узорцима се затим дода 10  $\mu$ l (1:20) HRPO, припремљен *ex tempore*. Након стајања на собној температури 10 минута, додаје се 1M NaOH како би се подесио  $pH \approx 12$ . Као слепа проба користи се еквивалентна количина *Krebs-Hensenleit*-овог раствора. Мерење апсорбанце (A) врши се на таласној дужини максималне апсорбције  $\lambda_{\max} = 610$  nm, у стакленим киветама запремине 1 ml.

Концентрација ослобођеног  $H_2O_2$  одређује се на основу калибрационе криве одређиване за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве, користи се стандардни раствор  $H_2O_2$  (Stock) уз претходну проверу концентрације ( $A_{230}$  за 10mM  $H_2O_2$  износи 0,810). У три епрувете се пипетира 5, 10 и 20  $\mu$ l 1 mM раствора  $H_2O_2$ , 200  $\mu$ l дестиловане воде, 800  $\mu$ l раствора фенол црвеног и 10  $\mu$ l (1:20) HRPO. Након инкубације од 10 минута на собној температури подеси се  $pH \approx 12$  додавањем 1M NaOH. Концентрације водоник пероксида (nmol/  $H_2O_2$ /ml) у узорцима мере се спектрофотометријски на таласној дужини максималне апсорбције  $\lambda_{\max} = 610$  nm.

Количина ослобођеног водоник пероксида у коронарном венском ефлуенту добија се у поступку:

1. Фактор апсорбције (F) по једном nmol-у  $H_2O_2$  одређује се формулом:

$$F = \frac{\Delta A}{nmolH_2O_2 / cuv}$$

где је  $\Delta A$  – финална апсорбанца ( $A = A_u - A_{sp}$ ).

2. Концентрација  $H_2O_2$  добија се на основу формуле:

$$nmol H_2O_2/ml \text{ ефлуента} = \Delta A/F$$

3. Количина ослобођеног  $H_2O_2$  по граму срчаног ткива одређује се формулом:

$$nmol H_2O_2/minute/g \text{ wt} = \Delta A/F \times CF/m_{\text{heart}}$$

### **3.5.2. Ензимски параметри некрозе миокарда**

Параметри ензимске некрозе миокарда из коронарног венског ефлуента, одређивани су у Центру за лабораторијску дијагностику, Клинички центар Крагујевац, Република Србија, на апарату *Olympus AU 400 (Olympus, Japan)*.

#### **3.5.2.1. Аспартат аминотрансфераза (*AST – Aspartate aminotransferase*)**

Кинетички *UW* тест за квантитативно одређивање *AST (EC 2.6.1.1)* у серуму и плазми на *Olympus* анализаторима. Само за *in vitro* дијагностичку примену.

#### **3.5.2.2. Аланин аминотрансфераза (*ALT – Alanine aminotransferase*)**

Кинетички *UW* тест за квантитативно одређивање *ALT (EC 2.6.1.2)* у серуму и плазми на *Olympus* анализаторима. Само за *in vitro* дијагностичку примену.

#### **3.5.2.3. Лактат дехидрогеназа (*LDH – Lactate dehydrogenase*)**

Кинетички *UW* тест за квантитативно одређивање *LDH (EC 1.1.1.27)* у серуму и плазми на *Olympus* анализаторима. Само за *in vitro* дијагностичку примену.

#### **3.5.2.4. Креатин киназа (*CK – Creatine kinase*)**

Кинетички *UW* тест за квантитативно одређивање *CK NAC (EC 2.7.3.2)* у серуму и плазми на *Olympus* анализаторима. Само за *in vitro* дијагностичку примену.

#### **3.5.2.5. Креатин киназа, изоензим МБ (*CK-MB - Creatine kinase isoenzyme MB*)**

Ензимски имуноинхибициони тест за квантитативно одређивање изоензима *CK-MB* у серуму и плазми на *Olympus* анализаторима. Само за *in vitro* дијагностичку примену.

### 3.6. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Прорачун укупног узорка је заснован на претходно публикованим резултатима [10,48,76,77]. За прорачун је коришћен *t*-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (*G Power 3*) [78]. Узимајући у обзир резултате ових студија, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 84 (по 12 у свакој групи). Имајући у виду могућност искључења неких експерименталних животиња из завршне анализе (комплијанса – некомплетни подаци), укупни студијски узорак је утврђен на најмање 90 експерименталних животиња.

### 3.7. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

За тестирање хипотеза о постојању зависности између дате дозе и ефеката примењених реагенса коришћена је линеарна регресија логаритамски обрађених података по методи најмањих квадрата. Ефекат различитих концентрација испитиваних супстанци измерен на крају посматраног периода (са максималном концентрацијом супстанце) приказан је у виду процента максималног одговора. Опсег вредности коришћених за линеарну регресију био је од 15% до 85% од максималног одговора, у линеарнијем делу криве. Испитивана је статистичка значајност сваког коефицијента корелације између дате дозе и ефекта једињења, са максималном вероватноћом прихватања нулте хипотезе 0,05.

Програм који је коришћен за статистичку обраду података писан је у програмском језику *QBASIC*, а ауторско је дело професора Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, др Слободана Јанковића. Концентрација једињења која изазива 50% максималног ефекта ( $EC_{50}$ ), и њен интервал поверења ( $1,96 \times$  стандардна грешка) приказани су графички (програм *Graph*). За приказ дескриптивне статистике, тј. средњих вредности параметра са стандардним девијацијама ( $X \pm SD$ ) изолованог срца пацова узетих од 6 различитих животиња по експерименталним групама, коришћен је програм *Microsoft Excel 2003*.

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ-ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО-ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

Перфузија изолованог срца пацова раствором цисплатине, тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекса, тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекса, калијум-тетрахлороплатината (II), етилендиамин и 1,2-диамино-циклохексана у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), није статистички значајно утицала на вредности  $LV(dP/dt)_{\min}$ , систолног притиска у левој комори и дијастолног притиска у левој комори. Перфузија изолованог срца пацова раствором цисплатине у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), изазвала је статистички значајно и дозно-зависно снижење  $LV(dP/dt)_{\max}$ , фреквенце срца и коронарног протока. Перфузија изолованог срца пацова раствором тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекса, тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекса, калијум-тетрахлороплатината (II) и етилендиамин у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), изазвала је статистички значајно и дозно-зависно снижење коронарног протока. Једино, перфузија изолованог срца пацова раствором 1,2-диамино-циклохексана у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), није значајно утицала на испитиване кардиодинамске параметре (Табеле 1-6 и Графикони 1-7). Средње вредности кардиодинамских параметара дате у табелама 1-6, представљају аритметичку средину вредности измерених у 12 различитих експеримената на крају сваког посматраног периода, тј. после максималне изложености испитиваној супстанци. Ефекти различитих концентрација (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M) испитиваних супстанци представљени су графиконима 1-9 и изражени су процентом максималног одговора тј. смањења у односу на контролу. Свака тачка репрезентује средњу вредност одговора изолованог срца пацова узетих од 12 различитих животиња  $\pm$  стандардна девијација (SD).

**Табела 1.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности фреквенце изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (bpm)						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	256,02 ± 16,55	239,70 ± 14,25*	252,17 ± 35,50	250,25 ± 17,99	252,45 ± 20,04	246,97 ± 31,79	251,70 ± 16,90
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	247,18 ± 19,94	228,47 ± 12,47*	244,23 ± 22,95	238,87 ± 23,37	246,05 ± 20,80	230,00 ± 29,00	236,50 ± 18,13
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	240,28 ± 16,54	215,62 ± 18,92*	230,70 ± 26,12	229,48 ± 26,72	235,33 ± 21,95	219,72 ± 28,37	210,72 ± 16,85
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	232,98 ± 17,49	199,18 ± 39,53*	211,18 ± 29,12	202,70 ± 29,42	224,62 ± 20,09	201,10 ± 26,86	159,50 ± 28,73
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	225,03 ± 15,86	127,33 ± 31,17*	55,90 ± 34,49	134,85 ± 37,59	214,63 ± 20,60	185,57 ± 32,31	81,35 ± 21,80

\* *p* < 0,05 у поређењу са контролном групом.

**Табела 2.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности LV(*dP/dt*)<sub>max</sub> изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mmHg s <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	296,12 ± 160,97	1862,99 ± 398,79*	2423,15 ± 396,16	2046,17 ± 252,12	1785,92 ± 449,69	2064,23 ± 219,47	2195,58 ± 158,67
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	2039,18 ± 186,59	1686,76 ± 391,16*	2270,65 ± 394,64	1846,32 ± 246,48	1691,55 ± 410,61	1873,27 ± 163,62	1771,23 ± 298,55
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	1945,92 ± 159,05	1451,97 ± 364,57*	2064,65 ± 401,60	1577,48 ± 371,66	1495,18 ± 312,46	1694,00 ± 166,70	1507,75 ± 105,16
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	1827,70 ± 87,53	1154,03 ± 240,19*	1710,67 ± 337,95	1223,68 ± 304,75	1339,30 ± 229,27	1466,23 ± 251,39	1123,33 ± 159,46
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	1701,70 ± 101,02	730,90 ± 187,19*	261,70 ± 126,07	501,62 ± 183,82	1159,95 ± 248,60	1270,07 ± 325,22	759,00 ± 221,81

\* *p* < 0,05 у поређењу са контролном групом.

**Табела 3.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности LV(*dP/dt*)<sub>min</sub> изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mmHg s <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	-1259,28 ± 199,18	-1164,25 ± 307,67	-1484,85 ± 243,08	-1221,98 ± 170,79	-1055,48 ± 350,20	-1235,82 ± 157,35	-1298,15 ± 103,15
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	-1194,83 ± 223,82	-907,57 ± 298,09	-1289,47 ± 273,15	-920,22 ± 171,93	-953,30 ± 309,51	-1019,73 ± 159,34	-990,52 ± 101,01
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	-1058,35 ± 138,16	-720,17 ± 227,28	-1082,12 ± 200,96	-741,62 ± 201,26	-776,77 ± 195,61	-837,70 ± 132,28	-694,28 ± 77,15
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	-952,18 ± 88,95	-537,95 ± 129,13	-826,07 ± 185,14	-536,00 ± 178,12	-622,90 ± 157,13	-700,90 ± 145,93	-407,33 ± 67,51
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	-857,68 ± 131,47	-285,77 ± 91,25	-142,65 ± 41,06	-202,90 ± 57,79	-515,10 ± 176,51	-569,05 ± 167,73	-275,70 ± 85,90

**Табела 4.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности LVSP изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mm Hg)						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	53,32 ± 4,59	59,83 ± 14,68	71,28 ± 11,15	57,22 ± 5,55	47,15 ± 13,24	59,80 ± 9,28	65,77 ± 6,09
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	51,65 ± 5,16	50,42 ± 13,85	63,08 ± 10,09	47,87 ± 4,83	44,03 ± 11,26	51,70 ± 10,12	54,75 ± 5,33
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	50,12 ± 5,04	43,93 ± 9,20	59,68 ± 8,98	43,00 ± 7,38	39,73 ± 9,51	41,40 ± 8,16	42,45 ± 6,38
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	47,00 ± 3,93	36,48 ± 5,48	52,83 ± 10,68	34,02 ± 8,75	35,63 ± 7,06	39,50 ± 9,94	34,38 ± 4,60
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	44,48 ± 4,66	27,12 ± 6,28	14,72 ± 2,88	17,78 ± 3,64	30,48 ± 8,51	31,90 ± 10,25	25,35 ± 5,86

**Табела 5.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности LVDP изолованог срца пацова

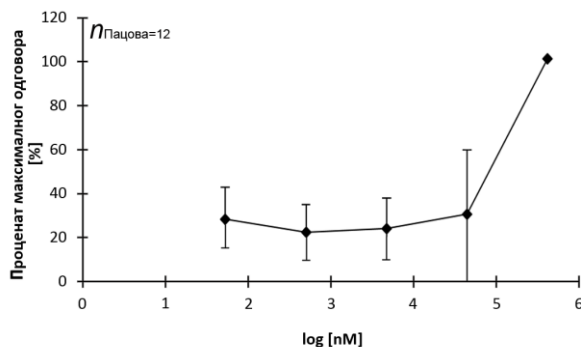
<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mm Hg)						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	1,80 ± 0,85	5,13 ± 1,65	2,88 ± 1,20	3,65 ± 1,54	2,02 ± 1,12	3,00 ± 1,40	6,43 ± 2,15
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	1,65 ± 1,30	4,92 ± 2,22	3,52 ± 1,26	3,37 ± 1,33	2,00 ± 1,04	3,25 ± 1,27	5,22 ± 1,41
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	1,73 ± 1,09	4,82 ± 2,25	3,52 ± 1,41	3,53 ± 1,49	2,08 ± 0,99	3,22 ± 1,29	4,58 ± 1,18
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	1,67 ± 0,98	5,03 ± 1,86	4,38 ± 1,43	3,35 ± 1,71	2,15 ± 1,30	3,23 ± 1,45	3,83 ± 1,28
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	1,53 ± 0,80	4,80 ± 1,80	3,57 ± 2,13	2,77 ± 1,61	2,07 ± 1,11	3,05 ± 1,26	3,52 ± 1,45

**Табела 6.** Ефекти перфузије цисплатине, [PtCl<sub>4</sub>(en)], [PtCl<sub>4</sub>(dach)], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на вредности коронарног протока изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (ml min <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	9,80 ± 0,68	7,13 ± 1,05*	7,73 ± 0,99*	7,80 ± 0,89	6,97 ± 1,35*	7,07 ± 0,85*	8,27 ± 1,01*
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	9,63 ± 0,75	6,43 ± 1,16*	7,33 ± 0,97*	6,90 ± 1,07	6,60 ± 1,23*	6,43 ± 0,89*	7,27 ± 1,01*
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	9,33 ± 0,77	5,50 ± 1,28*	6,60 ± 1,06*	5,50 ± 1,11	5,77 ± 1,05*	5,40 ± 0,95*	5,00 ± 0,47*
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	8,93 ± 0,69	4,10 ± 1,09*	5,00 ± 0,70*	4,03 ± 1,08	4,87 ± 1,06*	3,97 ± 1,07*	2,63 ± 0,56*
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	8,43 ± 0,61	2,33 ± 0,69*	0,60 ± 0,22*	1,53 ± 0,43	4,17 ± 0,94*	2,97 ± 1,15*	1,20 ± 0,51*

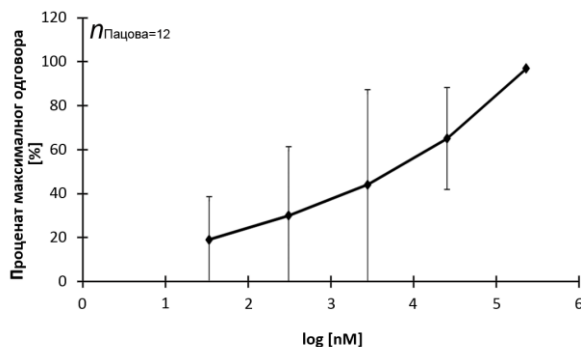
\**p* < 0,05 у поређењу са контролном групом.

**Фреквенца срца (HR).** en:  $F = 2,34$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . dach:  $F = 0,8$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $K_2[PtCl_4]$ :  $F = 1,76$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $[PtCl_4(dach)]$ :  $F = 0,41$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $[PtCl_4(en)]$ :  $F = 1,75$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 24,7$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ,  $EC_{50} = 19809,46 \pm 4,43$  (Графикон 1).



**Графикон 1.** Снижење  $HR$  изолованог срца пацова изазвано перфузијом цисплатине

**Максимална стопа промене притиска у левој комори  $[LV(dP/dt)_{max}]$ .** en:  $F = 3,00$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . dach:  $F = 1,74$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $K_2[PtCl_4]$ :  $F = 0,76$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $[Pt(dach)Cl_4]$ :  $F = 2,14$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  $[PtCl_4(en)]$ :  $F = 0,91$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ;  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 8,75$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ;  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 233,45 \pm 3,55$  (Графикон 2).



**Графикон 2.** Снижење  $LV(dP/dt)_{max}$  изолованог срца пацова изазвано перфузијом цисплатине

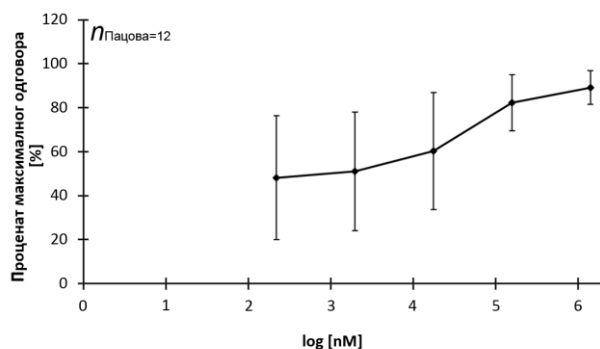


**Минимална стопа промене притиска у левој комори  $[LV(dp/dt)_{\min}]$ .** en:  $F = 1,37$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 1,19$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$K_2[PtCl_4]$ :**  $F = 2,53$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(dach)]$ :**  $F = 2,14$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(en)]$ :**  $F = 1,14$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 2,53$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .

**Систолни притисак у левој комори (SLVP).** en:  $F = 1,59$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 1,39$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$K_2[PtCl_4]$ :**  $F = 1,58$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(dach)]$ :**  $F = 0,38$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[Pt(en)Cl_4]$ :**  $F = 0,78$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 0,81$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .

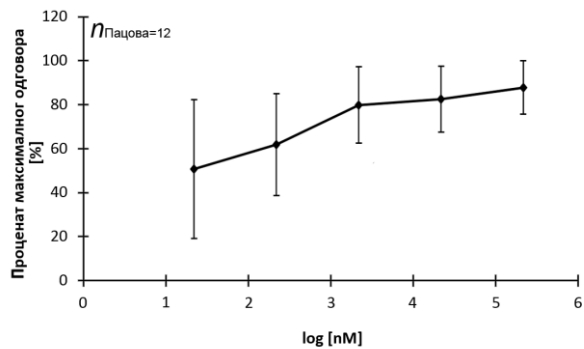
**Дијастолни притисак у левој комори (DLVP).** en:  $F = 0,24$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 0,08$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$K_2[PtCl_4]$ :**  $F = 0,18$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(dach)]$ :**  $F = 2,14$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(en)]$ :**  $F = 1,89$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 0,43$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .

**Коронарни проток (CF).** en:  $F = 4,22$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 770,88 \pm 5,17$  (Графикон 3).



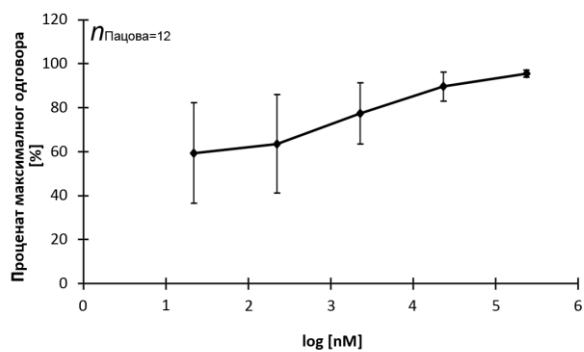
**Графикон 3.** Снижење CF изолованог срца пацова изазвано перфузијом en

**dach:**  $F = 1,49$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>]:**  $F = 3,32$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 8,73 \pm 6,71$  (Графикон 4).



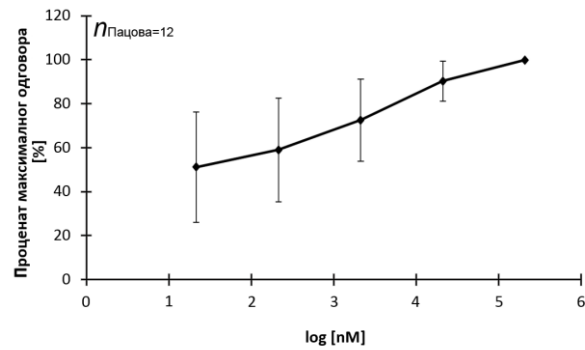
**Графикон 4.** Снижење *CF* изолованог срца пацова изазвано перфузијом  $K_2[PtCl_4]$

**[PtCl<sub>4</sub>(dach):**  $F = 5,91$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 1,02 \pm 4,06$  (Графикон 5).



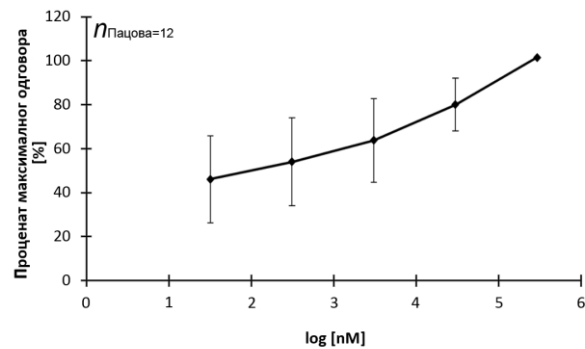
**Графикон 5.** Снижење *CF* изолованог срца пацова изазвано перфузијом  $[PtCl_4(dach)]$

[PtCl<sub>4</sub>(en)]:  $F = 7,79$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 39,61 \pm 3,22$  (Графикон 6).



Графикон 6. Снижење  $CF$  изолованог срца пацова изазвано перфузијом [PtCl<sub>4</sub>(en)]

Цисплатина:  $F = 11,35$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 274,56 \pm 2,71$  (Графикон 7).



Графикон 7. Снижење  $CF$  изолованог срца пацова изазвано перфузијом цисплатине

## 4.2. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ-ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО-ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКЕ ПАРАМЕТРЕ У КОРОНАРНОМ ВЕНСКОМ ЕФЛУЕНТУ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

### 4.2.1. Параметри оксидативног стреса

Перфузија изолованог срца пацова раствором цисплатине, тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекса, тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекса, етилен-диамина и 1,2-диамино-циклохексана у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), није значајно утицала на промене вредности NO,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  и TBARS у коронарном венском ефлуенту, у односу на контролну групу ( $p>0,05$ ).

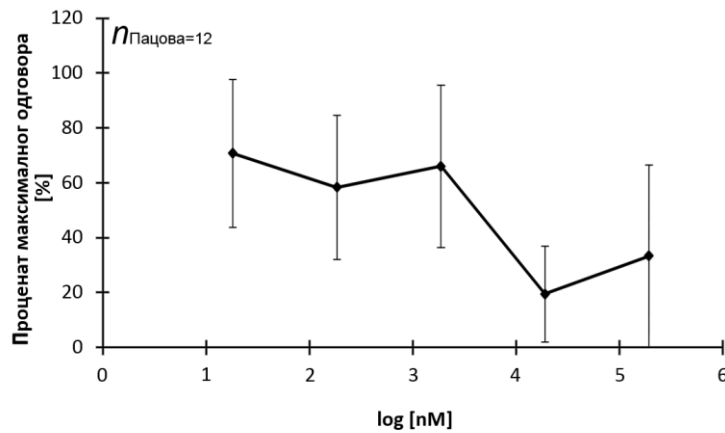
Перфузија изолованог срца пацова раствором калијум-тетрахлороплатината (II) у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), изазвала је статистички значајно и дозно-зависно повећање вредности NO и TBARS у односу на контролу ( $p<0,05$ ), док на вредности  $O_2^-$  и  $H_2O_2$  није имала значајан утицај ( $p>0,05$ ), (Табеле 7-10 и Графикони 8-9).

Средње вредности биохемијских параметара дате у табелама 7-10, представљају аритметичку средину вредности параметара оксидативног стреса са стандардним девијацијама ( $X\pm SD$ ) измерених у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова узетих од 12 различитих животиња по експерименталним групама на крају сваког посматраног периода, тј. после максималне изложености испитиваној супстанци.

Ефекти различитих концентрација испитиваних супстанци представљени на графиконима 7-8, изражени су процентом максималног одговора тј. смањења у односу на контролу. Свака тачка репрезентује средњу вредност одговора изолованог срца пацова узетих од 12 различитих животиња  $\pm$  стандардна девијација (SD).

#### 4.2.1.1. Азот-моноксид (NO) у облику нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

**en:**  $F = 1,25$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach**  $F = 1,22$ ; ,  $df1=4$ ,  $df2=25$ ,  $p > 0,05$ .  
**K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>]:**  $F = 3,97$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 1606,29 \pm 0,12$  (Графикон 8).  
**[Pt(dach)Cl<sub>4</sub>]:**  $F = 0,39$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **[Pt(en)Cl<sub>4</sub>]:**  $F = 2,57$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  
 $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 1,65$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$  (Графикон 8).



**Графикон 8.** Повећање динамике ослобађања NO у коронарни венски ефлуент изолованог срца пацова перфузијом K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>]

**Табела 7.** Утицај перфузије цисплатине, [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на динамичку ослобађања NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у коронарни венски ефлуент изолованог срца пацова

$n = 12$	$X \pm SD$ (nmol min <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
$10^{-8}M$	5,20 ± 4,39	10,24 ± 4,79	3,62 ± 1,80	6,69 ± 2,53	8,48 ± 6,32	6,45 ± 4,26	12,19 ± 3,96*
$10^{-7}M$	3,72 ± 2,40	10,60 ± 4,20	2,60 ± 1,53	4,09 ± 2,30	9,69 ± 5,41	2,35 ± 1,70	8,90 ± 3,90*
$10^{-6}M$	2,34 ± 1,93	8,99 ± 2,22	3,36 ± 1,36	3,94 ± 1,34	7,34 ± 2,57	2,85 ± 1,99	7,57 ± 1,12*
$10^{-5}M$	2,79 ± 1,32	6,29 ± 1,28	3,21 ± 1,80	3,18 ± 2,13	5,04 ± 3,57	2,71 ± 1,78	3,81 ± 0,62*
$10^{-4}M$	5,21 ± 8,07	3,12 ± 0,85	0,24 ± 0,21	1,97 ± 1,92	5,04 ± 1,83	2,10 ± 2,77	1,60 ± 0,82*

\*  $p < 0,05$  у поређењу са контролном групом.

#### 4.2.1.2. Супероксид анјон радикал ( $O_2^-$ )

**en:**  $F = 1,52$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 0,87$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$K_2[PtCl_4]$ :**  $F = 1,18$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ;  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(en)]$ :**  $F = 0,50$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(dach)]$ :**  $F = 0,40$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 2,40$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .

**Табела 8.** Утицај перфузије цисплатине,  $[Pt(en)Cl_4]$ ,  $[Pt(dach)Cl_4]$ ,  $K_2[PtCl_4]$ , en и dach на динамику ослобађања  $O_2^-$  у коронарни венски ефлуент изолованог срца пацова

$n = 12$	$X \pm SD \text{ (nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}\text{)}$						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	$[Pt(dach)Cl_4]$	$[Pt(en)Cl_4]$	$K_2[PtCl_4]$
$10^{-8}M$	$55,66 \pm 18,11$	$40,46 \pm 51,20$	$26,06 \pm 12,31$	$38,54 \pm 25,64$	$42,58 \pm 8,70$	$44,05 \pm 40,72$	$36,40 \pm 22,90$
$10^{-7}M$	$40,19 \pm 28,30$	$43,96 \pm 22,35$	$27,57 \pm 11,16$	$19,65 \pm 12,54$	$36,35 \pm 17,05$	$41,76 \pm 15,95$	$29,16 \pm 18,95$
$10^{-6}M$	$45,04 \pm 26,20$	$27,93 \pm 26,95$	$18,80 \pm 12,46$	$18,20 \pm 13,27$	$14,88 \pm 9,03$	$40,09 \pm 25,49$	$52,90 \pm 47,37$
$10^{-5}M$	$53,51 \pm 25,38$	$14,36 \pm 8,84$	$30,85 \pm 18,85$	$14,82 \pm 5,14$	$26,64 \pm 10,01$	$22,49 \pm 9,27$	$21,47 \pm 15,83$
$10^{-4}M$	$49,87 \pm 15,36$	$13,14 \pm 12,36$	$2,20 \pm 1,48$	$8,50 \pm 4,28$	$12,96 \pm 6,09$	$26,49 \pm 18,41$	$8,95 \pm 5,16$

#### 4.2.1.3. Водоник пероксид ( $H_2O_2$ )

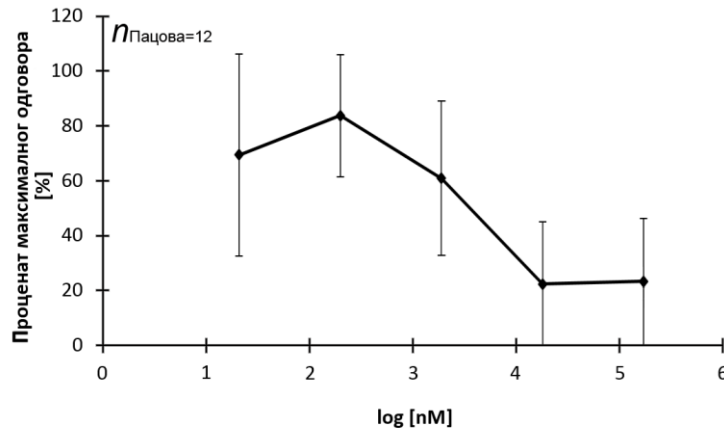
**en:**  $F = 0,42$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 0,67$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$K_2[PtCl_4]$ :**  $F = 0,28$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(dach)]$ :**  $F = 0,85$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .  **$[PtCl_4(en)]$ :**  $F = 0,39$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 0,37$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ .

**Табела 9.** Утицај перфузије цисплатине,  $[Pt(en)Cl_4]$ ,  $[Pt(dach)Cl_4]$ ,  $K_2[PtCl_4]$ , en и dach на динамику ослобађања  $H_2O_2$  у коронарни венски ефлуент изолованог срца пацова

$n = 12$	$X \pm SD \text{ (nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}\text{)}$						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	$[Pt(dach)Cl_4]$	$[Pt(en)Cl_4]$	$K_2[PtCl_4]$
$10^{-8}M$	$23,54 \pm 13,26$	$13,61 \pm 4,33$	$7,84 \pm 5,22$	$24,47 \pm 10,02$	$9,13 \pm 4,69$	$3,88 \pm 1,11$	$2,97 \pm 2,74$
$10^{-7}M$	$18,58 \pm 5,43$	$11,90 \pm 6,50$	$7,77 \pm 8,28$	$18,71 \pm 4,48$	$8,65 \pm 3,12$	$3,86 \pm 1,30$	$1,41 \pm 1,25$
$10^{-6}M$	$19,66 \pm 7,48$	$9,28 \pm 5,03$	$8,39 \pm 6,82$	$17,35 \pm 2,82$	$7,33 \pm 3,36$	$3,55 \pm 0,98$	$1,08 \pm 0,53$
$10^{-5}M$	$17,30 \pm 10,94$	$8,95 \pm 5,30$	$3,58 \pm 2,56$	$11,74 \pm 3,00$	$5,88 \pm 2,07$	$2,62 \pm 1,27$	$0,55 \pm 0,51$
$10^{-4}M$	$20,01 \pm 14,96$	$4,47 \pm 2,96$	$0,53 \pm 0,51$	$3,98 \pm 1,13$	$4,76 \pm 1,41$	$1,19 \pm 0,61$	$0,26 \pm 0,20$

#### 4.2.1.4. Индекс липидне пероксидације (TBARS)

**en:**  $F = 0,34$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **dach:**  $F = 1,08$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>]:**  $F = 6,29$ ,  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ;  $EC_{50} = 3092,74 \pm 0,20$  (Графикон 9). **[PtCl<sub>4</sub>(en)]:**  $F = 2,56$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **[PtCl<sub>4</sub>(dach)]:**  $F = 0,24$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$ . **Цисплатина:**  $F = 0,92$ ;  $df1 = 4$ ,  $df2 = 25$ ,  $p > 0,05$  (Графикон 8).



**Графикон 9.** Повећање динамике ослобађања TBARS у коронарним венским ефлуентима изолованог срца пацова перфузијом K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>]

**Табела 10.** Утицај перфузије цисплатине, [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на динамику ослобађања TBARS у коронарним венским ефлуентима изолованог срца пацова

$n = 12$	$X \pm SD (\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1})$						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
$10^{-8}M$	69,42 ± 9,91	28,68 ± 23,76	12,51 ± 6,02	29,01 ± 12,59	10,21 ± 3,93	22,13 ± 11,98	40,03 ± 18,38*
$10^{-7}M$	83,76 ± 10,26	20,65 ± 16,24	10,20 ± 7,33	35,69 ± 17,36	19,80 ± 23,25	32,63 ± 19,14	48,84 ± 18,59*
$10^{-6}M$	60,91 ± 10,50	24,56 ± 11,41	16,52 ± 11,83	31,37 ± 25,78	10,32 ± 3,15	18,01 ± 7,95	37,10 ± 22,36*
$10^{-5}M$	22,41 ± 9,23	15,97 ± 10,15	12,10 ± 4,09	23,63 ± 12,71	7,54 ± 2,50	21,59 ± 11,96	18,35 ± 6,52*
$10^{-4}M$	23,36 ± 8,10	8,49 ± 4,60	1,33 ± 0,96	5,50 ± 2,58	9,72 ± 5,89	12,47 ± 9,79	7,03 ± 4,39*

\*  $p < 0,05$  у поређењу са контролном групом.

#### 4.2.2. Ензимски параметри некрозе миокарда

Перфузија изолованог срца пацова раствором цисплатине, тетрахлоридо(етилендиамин)платина(IV) комплекса, тетрахлоридо(1,2-диаминциклохексан)платина(IV) комплекса, етилен-диамина и 1,2-диамино-циклохексана у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), је утицала на промене вредности ензима некрозе миокарда *AST*, *ALT*, *LDH*, *CK-MB* у конорнарном венском ефлуенту, у односу на контролну групу (Табела 11,12,13,14).

У току спектрофотометријског одређивања ензимских параметара некрозе миокарда, у већини узорака нису детектоване вредности. Мали број детектованих вредности је био очекиван у складу са познатом чињеницом да је концентрациони ранг ензима у коронарном венском ефлуенту близу доње границе детекције ( $0,4 \text{ mUml}^{-1}$ ) [77]. Због мале величине узорка није било могуће статистички обрадити добијене резултате.

Вредности ензимских параметара некрозе миокарда приказане у табелама 11-14, представљају аритметичку средину измерених вредности у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова са стандардним девијацијама ( $X \pm SD$ ), узетих од 12 различитих животиња по експерименталним групама на крају сваког посматраног периода, тј. после максималне изложености испитиваној супстанци.

**Табела 11.** Утицај перфузије цисплатине,  $[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_4]$ ,  $[\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_4]$ ,  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ , en и dach на активност *AST* у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова

$n=12$	$X \pm SD \text{ (mU ml}^{-1}\text{)}$						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	$[\text{Pt}(\text{dach})\text{Cl}_4]$	$[\text{Pt}(\text{en})\text{Cl}_4]$	$\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$
$10^{-8}M$	$3,17 \pm 1,60$	$1,33 \pm 0,82$	$2,50 \pm 0,55$	$2,83 \pm 0,75$	$3,33 \pm 0,82$	$3,00 \pm 2,00$	$2,50 \pm 1,22$
$10^{-7}M$	$2,00 \pm 0,63$	$2,00 \pm 1,10$	$2,17 \pm 0,75$	$1,50 \pm 1,22$	$3,00 \pm 0,89$	$2,50 \pm 1,64$	$2,50 \pm 0,55$
$10^{-6}M$	$2,00 \pm 0,63$	$2,00 \pm 1,67$	$2,17 \pm 0,75$	$2,83 \pm 1,17$	$2,17 \pm 0,98$	$2,67 \pm 0,82$	$2,17 \pm 0,75$
$10^{-5}M$	$2,00 \pm 0,63$	$1,76 \pm 0,82$	$1,83 \pm 0,98$	$3,33 \pm 1,37$	$2,17 \pm 0,98$	$2,00 \pm 0,89$	$2,50 \pm 1,38$
$10^{-4}M$	$2,50 \pm 0,84$	$1,17 \pm 1,17$	$5,67 \pm 2,80$	$4,17 \pm 3,28$	$2,83 \pm 0,75$	$2,50 \pm 0,55$	$1,67 \pm 1,51$



**Табела 12.** Утицај перфузије цисплатине, [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на активност *ALT* у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mU ml <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	4,33 ± 1,86	3,33 ± 1,37	3,17 ± 1,60	4,67 ± 0,82	4,50 ± 1,38	5,33 ± 1,21	4,00 ± 1,10
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	4,33 ± 0,82	2,33 ± 0,52	4,50 ± 1,87	4,17 ± 0,98	4,67 ± 0,52	4,17 ± 2,48	4,17 ± 0,75
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	4,50 ± 0,55	1,83 ± 1,17	4,50 ± 0,84	5,00 ± 1,41	4,17 ± 0,98	3,67 ± 1,03	4,00 ± 1,10
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	5,67 ± 1,51	2,67 ± 0,52	3,50 ± 1,38	5,00 ± 1,10	4,17 ± 1,47	4,50 ± 1,05	3,83 ± 0,75
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	3,50 ± 1,05	3,17 ± 0,98	4,33 ± 1,21	5,33 ± 1,03	3,67 ± 1,51	4,50 ± 1,22	3,67 ± 1,51

**Табела 13.** Утицај перфузије цисплатине, [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на активност *LDH* у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mU ml <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	16,50 ± 4,68	20,83 ± 4,54	14,00 ± 6,42	9,17 ± 6,08	18,00 ± 3,74	15,00 ± 3,22	16,00 ± 8,41
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	14,83 ± 6,08	19,50 ± 4,68	13,83 ± 3,92	8,67 ± 6,25	17,00 ± 4,24	14,00 ± 7,72	15,17 ± 4,07
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	14,83 ± 7,14	18,83 ± 9,37	10,33 ± 2,80	8,83 ± 4,22	11,50 ± 5,96	15,67 ± 4,93	17,50 ± 5,09
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	8,50 ± 4,18	20,67 ± 3,44	13,17 ± 4,54	10,17 ± 6,91	16,67 ± 5,01	15,00 ± 8,92	11,33 ± 5,13
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	12,17 ± 5,74	21,17 ± 5,42	14,83 ± 4,96	13,50 ± 3,08	14,83 ± 6,77	18,17 ± 6,68	20,67 ± 3,44

**Табела 14.** Утицај перфузије цисплатине, [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>], en и dach на активност *СК-МВ* у коронарном венском ефлуенту изолованог срца пацова

<i>n</i> = 12	<i>X</i> ± <i>SD</i> (mU ml <sup>-1</sup> )						
	Контрола	Цисплатина	en	dach	[Pt(dach)Cl <sub>4</sub> ]	[Pt(en)Cl <sub>4</sub> ]	K <sub>2</sub> [PtCl <sub>4</sub> ]
10 <sup>-8</sup> <i>M</i>	1,82 ± 1,50	0,37 ± 0,49	1,25 ± 1,52	0,63 ± 0,63	0,13 ± 0,22	1,67 ± 1,34	0,97 ± 1,13
10 <sup>-7</sup> <i>M</i>	0,32 ± 0,50	1,15 ± 0,85	0,63 ± 0,80	0,48 ± 0,85	0,13 ± 0,24	0,68 ± 1,40	0,63 ± 0,83
10 <sup>-6</sup> <i>M</i>	0,73 ± 1,28	0,83 ± 0,99	0,58 ± 0,85	0,72 ± 0,97	0,75 ± 1,34	0,32 ± 0,78	0,48 ± 0,67
10 <sup>-5</sup> <i>M</i>	1,58 ± 0,89	0,83 ± 0,71	2,18 ± 2,49	1,43 ± 1,18	0,95 ± 1,15	0,45 ± 0,91	0,75 ± 0,88
10 <sup>-4</sup> <i>M</i>	0,85 ± 0,93	0,97 ± 1,17	0,98 ± 1,08	1,83 ± 2,10	0,40 ± 0,50	1,45 ± 1,00	Н.Д.*

\*Није детектовано.

## 5. ДИСКУСИЈА

### 5.1. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ-ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНОЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАНЕ КАРДИДИНАМСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

Биолошке мембране су прва линија одбране од токсичних супстанци [79]. Натријум-калијумова пумпа облик је активног транспорта јона кроз ћелијску мембрану. Концентрација јона натријума је већа у екстрацелуларној течности у односу на интрацелуларну течност, тако да јони натријума имају тенденцију да улазе у ћелију олакшаном дифузијом. Концентрација јона калијума је већа у интрацелуларној течности у односу на екстрацелуларну течност, тако да јони калијума имају тенденцију да изађу из ћелије олакшаном дифузијом. Пумпа за  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  одржава одговарајуће концентрације јона натријума и јона калијума у ћелији, тако што испумпава 3 јона натријума из ћелије (наспрот концентрацији јона натријума) и упумпава у ћелију 2 јона калијума (наспрот концентрацији јона калијума). Овај процес је могућ само уз утрошак АТП-а на протеинском каналу за транспорт натријума и калијума и представља процес примарног активног транспорта, јер се енергија троши на самом протеинском носачу [79,80].

Различите супстанце могу деловати на јонске носаче и јонске канале који регулишу пролаз јона кроз мембране. Овим се може инхибирати јонски “физиолошки” транспорт, тако што долази до поремећаја у раду  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  пумпе чиме се ремети  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  транспорт што резултује порастом нивоа  $\text{Ca}^{2+}$  у ћелији [81].

Кардиотоници се везују за екстрацелуларни део  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФ-азе у мембрани срчаних миоцита и инхибишу је. Настаје повишење концентрације натријума у ћелији и успоравање размене  $\text{Ca}^{2+}$  у замену за  $\text{Na}^+$ , који функционише уз помоћ градијента. Вишак  $\text{Ca}^{2+}$  у ћелији се складишти у саркоплазматични ретикулум одакле се отпушта са сваком следећом деполаризацијом мобилишући више мишићних

влакана у контракцији [80]. Количина АТП-а, потребна за контракцију и релаксацију срца зависи од оксидативне фосфорилације [82].

Квантитативном хистохемијском анализом показано је да фактори који потичу из коронарних крвних судова утичу на активност  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азе (АТФ-азе) актомиозина у миокарду [83]. АТФ-аза, један од најважнијих мембранских протеина који је интегрални део натријум-калијумове пумпе. Одговорна је за успостављање и одржавање електрохемијског градијента у ћелији, контролу волумена, транспорт угљених хидрата и аминокиселина кроз мембрану, ексцитацију нервне и мишићне ћелије [84,85]. Интерагује са мембранским протеинима и организује каскаду сигналних протеина у цитозолу за пренос информација интраћелијским органелама [87,88]. Трансдукцију сигнала остварује путем интеракције са тирозин киназом и рецептором за епидермални фактор раста у срчаним миоцитима [87,89]. Све ово, чини је значајном метом за многа органска и неорганска фармацеутски активна једињења, антитуморске агенсе, биогене јоне метала [90].

Митохондрије имају важну улогу у метаболичким процесима. Ове органеле генеришу преко 90% ћелијске АТП преко оксидативне фосфорилације, користећи енергију добијену при оксидацији у респираторном ланцу [91]. За овај процес троши се молекулски кисеоник. То значи да митохондрије имају важну улогу у преживљавању ћелија, тако да могу да служе као мете за токсична једињења и антитуморске агенсе [92].

Митохондрије могу имати важну улогу у процесу ћелијског одговора на цисплатину [93]. Директном интеракцијом са митохондријама ћелија карцинома, цисплатина индукује њихову апоптозу [94]. Овај цитостатик значајно смањује функцију митохондрија у ћелијама меланома [95]. Промене у функцији митохондрија повезане су са резистенцијом туморских ћелија на цисплатину [96]. Одређивање да ли су митохондрије примарни циљеви цисплатине важно је за разумевање основног механизма кардиотоксичног дејства овог цитостатика и његових аналога. Међутим, ефекат цисплатине на функцију митохондрија кардиомиоцита остаје нејасан.

Познато је да је стрес ендоплазматског ретикулума (ЕР) уско повезан са функцијом митохондрија и да доприноси контрактилној дисфункцији миокарда [97]. Кардиотоксичност цисплатине се огледа и у повећању ЕР стреса [82].

Етилен-диамин (en), који се користи као лиганд за синтезу комплекса [Pt(en)Cl<sub>4</sub>] је токсична и канцерогена супстанца [98], тако да су наши резултати у корелацији са истраживањима која су истакла токсичност ове супстанце према хепатобилијарном, респираторном и уринарном систему [99-101].

Калијум-тетрахлороплатинат(II), K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>] који се користи за синтезу Pt-комплекса је цитотоксична супстанца [102]. Резултати добијени у овој студији после перфузије калијум-тетрахлороплатината(II) су у корелацији са поменутом чињеницом.

1,2-диамино-циклохексан (dach) који се користи као лиганд за синтезу комплекса [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>] није изазвала значајне ефекте на кардиодинамске параметре при перфундовању изолованог срца пацова.

Кардиотоксичност, која се манифестује у току терапије цитостатицима, представља фактор ограничења за висину дозе примењеног цитостатика. Такође, може бити одговорна за појаву дуготрајних нежељених дејства код пацијената који су оболели од карцинома [103]. Доксорубицин, дериват антрациклина, је познати цитостатик који има широку примену у лечењу карцинома. Међутим, његова примена је управо ограничена због ризика од појаве тешке кардиотоксичности [52]. У већини клиничких студија доксорубицин је коришћен као референтна супстанца за испитивање кардиотоксичности [104]. У циљу смањења кардиотоксичности антрацикличних цитостатика предложено је неколико стратегија које подразумевају примену различитих антиоксиданаса [105]. У недавним истраживањима *Kukreja* и сарадници су указали на заштитну улогу различитих PDE-5 инхибитора од кардиотоксичности која је индукована доксорубицином [106].

Цисплатина заузима главно место у хемијотерапији различитих карцинома [107]. Клиничке студије су показале да терапија цисплатином може бити удружена са кардиотоксичношћу, до те мере да може бити један од главних ограничавајућих фактора у терапији [108,109]. Нежељена кардиоваскуларна дејства обухватају појаву

аритмија, миокардитис, кардиомиопатије и конгестивну срчану слабост [109]. Зато су истраживања усмерена у циљу развоја нових аналога цисплатине да би се добило једињење које би поседовало јаче дејство и смањену токсичност [1]. Новији Pt(IV) и Pt (II) комплекси показали су одличне у погледу антитуморског дејства али подаци о њиховој кардиотоксичности су контраверзни [3,5,110-112].

У нашим експериментима, перфузија изолованог срца пацова цисплатином је изазвала кардиодепресивни ефекат, који се манифестовао дозно-зависним снижењем вредности контрактилности, коронарног протока и смањењем фреквенце срца у односу на контролу. Ови резултати указују да дозно-зависни одговор цисплатине није ограничен само на срчани мишић већ и на коронарни ендотел.

Експерименталне студије такође, истичу штетни ефекат овог цитостатика на срце. *Ma* и коатори су указали да цисплатина доводи до смањења контрактилне способности изолованог срца миша [82], што је у складу са нашим резултатима.

Клиничке студије су показале да цисплатина индукује агрегацију тромбоцита и повећано настајање тромбосана у тромбоцитима а тиме и васкуларна оштећења [52]. У нашим експериментима смо користили *Krebs-Hensenleit*-ов раствор (сличан есктрацелуларној течности) уместо крви. Стога, вазоконстрикторни ефекти цисплатине показани у нашој студији можда би могли да се објасне као последица апототског дејства платине на ћелије ендотела.

На основу ових резултата поменута инхибиција транспортних јонских канала могла би се претпоставити као механизам кардиотоксичног дејства цисплатине на изолованом срцу пацова.

Са друге стране, нема довољно података о ефектима Pt(IV) комплекса на миокард и коронарну циркулацију. Pt(IV) комплекси који сардже лиганд, дериват етилен-диамина поседују цитоксичне особине [25]. Наши резултати су показали да перфузија изолованог срца пацова раствором [Pt(en)Cl<sub>4</sub>], [Pt(dach)Cl<sub>4</sub>], K<sub>2</sub>[PtCl<sub>4</sub>] и етилен-диамина испољава дозно-зависни кардиодепресивни ефекат само преко снижења вредности коронарног протока у односу на контролу. Ова чињеница упућује на то да би механизам кардиотоксичности на изолованом срцу пацова ових супстанци могао бити преко вазоконстрикције коронарних крвних судова.

Постоје подаци да Pt(IV) комплекси инхибирају активност *Stat3*-протеина и модулирају сигналну трансдукцију што доводи до апоптозе ћелија карцинома [113]. Међутим, проучавање механизма дејства испитиваних једињења није био циљ наших истраживања.

Добијени резултати у овој студији могу бити од велике користи за даља истраживања ефеката нових комплекса платине (аналога цисплатине) на срцу, ради процене сврсисходности евентуалне њихове клиничке употребе. Такође, могу помоћи у расветљавању штетних кардиоваскуларних ефеката свих цитостатика на бази платине, а тиме и њиховој рационалној употреби, као и синтези потенцијално бољих аналога из ове групе [127].

## 5.2. ЕФЕКТИ ЦИСПЛАТИНЕ, Pt(IV) КОМПЛЕКСА, КАЛИЈУМ-ТЕТРАХЛОРОПЛАТИНАТА (II), ЕТИЛЕН-ДИАМИНА И 1,2-ДИАМИНО-ЦИКЛОХЕКСАНА НА ИСПИТИВАЊЕ БИОХЕМИЈСКЕ ПАРАМЕТРЕ ИЗОЛОВАНОГ СРЦА ПАЦОВА

Оксидативни стрес, поред канцерогенезе одговоран је за настанак великог броја дегенеративних процеса и болести (атеросклероза, исхемијска болест срца, исхемија-реперфузија, хроничне инфламаторне болести, акутни инфламаторни поремећаји, фотооксидативна оштећења ока, обољења централног нервног система и поремећаји у процесу старења). Већина може бити додатно погоршана или иницирана дејством бројних прооксидативних агенаса из биокружења или лекова [114].

Прекомерна производња *ROS* и *RNS* или поремећај њихове равнотеже (нарочито између супероксид анјон радикала и нитрита) и недостатак антиоксидативне заштите изазвају оксидативни стрес. Када је ниво оксидативног стреса висок или одбрамбени или репаративни одговори снижени, долази до оштећења ћелије. у механизмиме ћелијског оштећења спадају оксидативно оштећење протеина, липидна пероксидација, прекиди ланаца ДНК и модификација нуклеинских база и пораст концентрације интрацелуларног слободног  $Ca^{2+}$  јона. Најбоље проучена штетна последица деловања *ROS* на живе организме је липидна пероксидација, односно низ ланчаних реакција слободних радикала које доводе до разарања полинезасићених масних киселина, што има за последицу разарање ћелијских мембрана и смрт ћелија [115].

Цисплатина се акумулира у митохондријама и може изазвати производњу *ROS* тако што смањује активност антиоксиданаса [116]. Повећање оксидативног стреса укључено је у кардиотоксичност, која ограничава клиничку употребу цисплатине [10]. Познато је да цисплатина може индуковати акутну кардиотоксичност [117], оксидативни стрес и апоптотичку ћелијску смрт астроцитома код људи и фибросаркома код мишева. На истим ћелијама, прекомерна производња *ROS* откривена је после третмана са једињењима платина (IV)

комплексима. Ова једињења индукују вишу цитотоксичност у односу на цисплатину и изазивају некрозу. Међутим повезаност оксидативног метаболизма са деловањем цитостатика на бази метала је још увек доста контроверзна. Производња *ROS* и липида пероксида, а тиме и индукција оксидативног стреса, сматрају се једним од главних узрока токсичности (посебно нефротоксичности и хепатотоксичности) једињења на бази метала. Изгледа да производња и улога *ROS* и липидне пероксидације у ефектима платине лекова може зависити од концентрације лека, капацитета антиоксиданса, и може се модулисати присуством фактора који може да промени оксидативну или антиоксидативну равнотежу [117,118].

До повећања индекса липидне пероксидације доводи и употреба доксорубицина (*DOX*). Он је најчешће употребљавани антракцилински медикамент а самим тим и највише ипитан, из тог разлога осврнућемо се на његов механизам токсичности. Користи се у терапији различитих неоплазми (лимфоми, акутне леукемије, карциноми дојке, микроцелуларни карцином плућа, карциноми мокраћне бешике, штитњаче, желуца, саркоми меких ткива и костију, неуробластоми, Вилмсов тумор). У току терапије могу се испољити и нежељени ефекти на: срцу, јетри, плућима, бубрезима, ћелијама крви. Нежељени ефекти на нивоу органа последица су промена на нуклеинским базама у самим ћелијама, као и услед продукције слободних радикала који доводе до појаве липидне пероксидације а тиме и до оштећења ћелијске мембране. Интеракција *DOX*-а са топоизомеразом (II) даје веома стабилан комплекс Доксорубицин-ДНК-топоизомеразе (II) који је најважнији механизам за цитостатску активност антракциличних медикамената. Топоизомераза има веома важну улогу у процесу транскрипције ДНК у периоду ћелијске деобе. Посе терапије *DOX*-ом на ћелијама су примећене морфолошке промене удружене са апоптозом. *DOX*-ом изазвана апоптоза може бити најбитнији механизам за терапијски и/или токсични ефекат овог медикамента. Код пацијената који су излечени од тумора уз помоћ терапије са *DOX*-ом главни нежељени ефекат јесте оштећење срчаног мишића. *DOX*-ом изазвана кардиотоксичност може бити акутна или хронична. Доказано је да оксидативни стрес као и функција митохондрија јесу кључни фактори у процесу оштећења ткива [52,53,104,121-123]. Енергетски метаболизам, регулација нивоа калцијума и индукција апоптозе, главна су улога



митохондрија у ћелији. Потребе за енергијом диктирају број митохондрија у ћелији. Срчани и скелетни мишић, мозак и јетра имају највише митохондрија због њиховог високог енергетског метаболизма. Такође, ове ћелије су изложене високом оксидативном стресу, што условљава и већи број митохондрија [124-126]. *DOX*-ом индуковани оксидативни стрес објашњава се хемијском структуром овог медикамента који стимулише настанак *ROS* [104]. Интрацелуларна концентрација *DOX*-а два пута је већа од екстрацелуларне, доказано је на *in vitro* експерименталним моделима. На нивоу митохондрија долази до реакције између *DOX*-а и митохондријалног ензима *NADH*-дехидрогеназе услед чега долази до ланчане реакције *ROS*. Последица тога је смањење нивоа ендогених антиоксиданаса што доводи до оксидативног стреса и оштећења ткива [121-123].

У нормалним физиолошким условима, ћелије контролишу ниво *ROS* успостављањем равнотеже између њиховог настајања и елиминације. Елиминација се одвија посредовањем глутатиона, супероксид-дисмутазе и каталазе. Међутим, у условима оксидативног стреса, висок ниво *ROS*-а може оштетити ћелијске протеине, липиде, ДНК што доводи до фаталних лезија у ћелији и канцерогенезе. Оксидативни стрес је израженији у ћелијама карцинома него код нормалних ћелија, најчешће због стимулације онкогена, повећане метаболичке активности и дисфункције митохондрија. Оксидативни стрес је главни механизам токсичности цисплатине. Цисплатина индукује оксидативни стрес деловањем на митохондрије тако што се везује за тиолне групе у протеинима митохондрија, инхибира преузимање калцијума и смањује мембрански потенцијал митохондрија [117].

Перфузија изолованог срца пацова раствором цисплатине, платина(IV) комплекса,  $K_2[PtCl_4]$ , *in vivo* и *in vitro* у свим примењиваним дозама (од  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  M), није значајно утицала на динамику ослобађања  $NO$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$  и *TBARS* у конорнарни венски ефлуент, у односу на контролну групу. Посматрано у односу на контролну групу, вредности појединих параметара су прилично контраверзни. У неким случајевима вредности су чак снижене у односу на контролу, мада такав одговор може бити резултат показане, статистички значајне и дозно-зависне вазоконстрикције. У складу са наведеним, не може закључити да није дошло до

оксидативног оштећења миокарда, поготово што је већ доказано да је један од механизма дејства цисплатине на ћелије управо оштећење њихове мембране.

Једино перфузија срца  $K_2[PtCl_4]$  индуковало је значајно и дозно-зависно повећање динамике ослобађања NO, и *TBARS* у коронарни венски ефлуент изолованог срца пацова, што може да укаже на потенцијални вазодилататорни ефекат [119,120]. са друге стране, различит ефекат  $K_2[PtCl_4]$  у односу на платина(IV) комплексе, може бити њихово различито валентно стање, јер је познато да су платина(IV) комплекси, прекурсори платина(II) аналога.

Цисплатина изазива оштећење миокарда [10]. У експериментима са пацовима који су третирани цисплатином утврђено је да долази до значајног повећања концентрације лактат-дехидрогеназе, креатин-киназе, креатин-киназе изоензима МБ у серуму и срчаног тропонина-*I* (*cTnI*) у плазми. Механизми индуковања кардиотоксичности дејством цисплатине су повећање оксидативног стреса и апоптоза. "Цурење" лактат-дехидрогеназе и креатин-киназе из срчаних миоцита, као последица кардиотоксичности, је највероватније последица дејства цисплатине на ћелијске мембране и липидне пероксидације [117].

## 6. ЗАКЉУЧЦИ

1. На основу дозно-зависног снижења коронарног протока, можемо закључити да су директни ефекти Pt(IV)-комплекса ( $[PtCl_4(en)]$  и  $[PtCl_4(dach)]$ ) и етилендиамина на изоловано срце пацова били доминантно ограничени на коронарни ендотел, а мање на срчани мишић.
2. Перфундовање срца калијум-тетрахлороплатинатом(II) је поред вазоконстрикторног ефекта (дозно-зависан пад коронарног протока) показало прооксидативно дејство (повећање вредности нитрита и индекса липидне пероксидације).
3. Цисплатина је индуковала депресију функције изолованог срца пацова што се манифестовало дозно-зависним снижењем вредности контрактилности, коронарног протока и смањењем фреквенце срца.
4. Перфундовање срца са 1,2-диамино-циклохексаном није изазвало значајне ефекте на срчани мишић у нашем експерименталном моделу.

## 7. ЛИТЕРАТУРА

1. Jakupec MA, Galanski M, Keppler BK. Tumour-inhibiting platinum complexes-state of the art and future perspectives. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2003; 146:1-53.
2. Bugarčić ŽD, Bogojeski J, Petrović B, Hochreuther S, van Eldik R. Mechanistic studies on the reactions of platinum(II) complexes with nitrogen- and sulfur-donor biomolecules. *Dalton Trans.* 2012; 41: 12329-54.
3. Shi Y, Liu S-A, Kerwood DJ, Goodisman J, Dabrowiak JC. Pt(IV) complexes as prodrugs for cisplatin. *J Inorg Biochem.* 2012;107:6-14.
4. Wong E, Giandomenico CM. Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs. *Chem Rev.* 1999;2451-66.
5. Lippert B. (Ed.): Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug. VHCA, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, Switzerland, Wiley-VCH, Weinheim, Germany 1999; pp.563.
6. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev.* 2007;9-23.
7. Fuertes MA, Alonso C, Perez JM. Biochemical Modulation of Cisplatin Mechanisms of Action: Enhancement of Antitumor Activity and Circumvention of Drug Resistance. *Chem Rev.* 2003; 645-61.
8. Hussein A, Ahmed AE, Shouman SA, Sharawy S. Ameliorating effect of DL- $\alpha$ -lipoic acid against cisplatin-induced nephrotoxicity and cardiotoxicity in experimental animals. *Drug Discov Ther.* 2012;6:147-56.
9. Raschi E, Vasina V, Ursino MG, Boriani G, Martoni A, De Ponti F. Anticancer drugs and cardiotoxicity: insights and perspectives in the era of targeted therapy. *Pharmacol Ther.* 2010;125:196–218.

10. El-Alwady ES, Moustafa YM, Abo-Elmatty DM, Radwan A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: Mechanisms and cardioprotective strategies. *Eur J Pharmacol.* 2011; 650: 335-41.
11. Bree E, Ruth S, Schotborgh CE, Baas P, Zoetmulder FA. Limited Cardiotoxicity after Extensive Thoracic Surgery And Intraoperative Hyperthermic Intrathoracic Chemotherapy with Doxorubicin and Cisplatin. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14: 3019-26.
12. Go RS, Adjei AA. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol.* 1999;17:409–22.
13. O'Dwyer PJ, Stevenson JP, Johnson SW. Clinical status of cisplatin, carboplatin, and other platinum-based antitumor drugs. In: Lippert B (ed) *Cisplatin. Chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug.* Verlag Helvetica Chimica Acta. 1999; Wiley-VCH, Weinheim, pp 31–69.
14. Highley MS, Calvert AH. Clinical experience with cisplatin and carboplatin. In: Kelland LR, Farrell N (Eds.) *Platinum-based drugs in cancer therapy.* Humana. 2000; Totowa, pp 171–94.
15. Shimada M, Itamochi H, Kigawa J. Nedaplatin: a cisplatin derivative in cancer chemotherapy. *Cancer Manag Res.* 2013;5: 67-76.
16. Ali I, Wani WA, Saleem K, Haque A. Platinum compounds: a hope for future cancer chemotherapy. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13: 296-306.
17. Levi F, Metzger G, Massari C, Milano G. Oxaliplatin. Pharmacokinetics and chronopharmacological aspects. *Clin Pharmacokinet.* 2000;38:1-21.
18. McKeage MJ. Lobaplatin: a new antitumour platinum drug. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001;10:119-28.
19. Vouillamoz-Lorenz S, Buclin T, Lejeune F, Bauer J, Leyvraz S, Decosterd LA. Pharmacokinetics of satraplatin (JM216), an oral platinum (IV) complex under daily oral administration for 5 or 14 days. *Anticancer Res.* 2003;23:2757-65.

20. Kelland LR. New platinum drugs. The pathway to oral therapy. In: Kelland LR, Farrell N, editors. *Platinum-based drugs in cancer therapy*. Totowa: Humana; 2000. pp.299–319.
21. Galanski M, Keppler BK. Searching for the magic bullet: anticancer platinum drugs which can be accumulated or activated in the tumor tissue. *Anticancer Agents Med Chem*. 2007;7: 55-73.
22. Rademaker-Lakhai JM, Terret C, Howell SB, Baud CM, De Boer RF, Pluim D, *et al*. A Phase I and pharmacological study of the platinum polymer AP5280 given as an intravenous infusion once every 3 weeks in patients with solid tumors. *Clin Cancer Res* 2004;10:3386-95.
23. Lin X, Zhang Q, Rice JR, Stewart DR, Nowotnik DP, Howel SB. Improved targeting of platinum chemotherapeutics: the antitumour activity of the HPMA copolymer platinum agent AP5280 in murine tumour models. *Eur J Cancer*. 2004;40:291-97.
24. Chaney S. The chemistry and biology of platinum complexes with the 1,2-diaminocyclohexane carrier ligand. *Int J Oncol*. 1995; 6:1291-305.
25. Jolley JN, Yanovsky AI, Kelland LR, Nolan KB. Synthesis and antitumour activity of platinum(II) and platinum(IV) complexes containing ethylenediamine-derived ligands having alcohol, carboxylic acid and acetate substituents. Crystal and molecular structure of  $[\text{PtL}^4\text{Cl}_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$  where  $\text{L}^4$  is ethylenediamine-*N,N'*-diacetate. *J Inorg Biochem*. 83:91-100.
26. Kaludjerović GN, Miljković D, Momcilović M, Djinović VM, Mostarica Stojković M, Sabo TJ, *et al*. Novel platinum(IV) complexes induce rapid tumor cell death in vitro. *Int J Cancer*. 2005;116:479-86.
27. Duncker DJ, Bache RJ. Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiol Rev*. 2008;88:1009-86.

28. Siewnicka A, Fajdek B, Janiszowski K. Simulation of Human Circulatory System with Coronary Circulation and Ventricular Assist Device. In: Jabłoński R, Březina T, editors. Mechatronics. Recent Technological and Scientific Advances. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2012. pp.679-83.
29. Richard E, Klabunde D. Cardiovascular Physiology Concepts. Lippincott Williams & Wilkins 2011; 6-97.
30. Teunissen P, Horrevoets A, van Royen N. The coronary collateral circulation: Genetic and environmental determinants in experimental models and humans Review Article. *J Mol Cell Cardiol.* 2012; 52:897-904.
31. Red-Horse K, Ueno H, Weissman IL, Krasnow MA. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. *Nature.* 2010;464:549-53.
32. Fukuta H, Little WC. The cardiac cycle and the physiologic basis of left ventricular contraction, ejection, relaxation, and filling. *Heart Fail Clin.* 2008;4: 1-11.
33. Borlaug BA, Kass DA. Mechanisms of diastolic dysfunction in heart failure. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16: 273-79.
34. von Spiegel T, Wietasch G, Hoeft A. Basics of myocardial pump function. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1998;46 Suppl 2:237-41.
35. Mikawa T, Hurtado R. Development of the cardiac conduction system. *Semin Cell Dev Biol.* 2007;18:90-100.
36. Solaro RJ. Regulation of Cardiac Contractility. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences 2011.
37. Little WC. The left ventricular dP/dtmax–end-diastolic volume relation in closed-chest dogs. *Circ Res.* 1987;56:808-15.
38. Gerald W. Dorn II and Jeffery D. Molkenin. Manipulating Cardiac Contractility in Heart Failure. *Circulation* 2004;109:150-8.

39. Sharma S, Jackson PG. and Makan J. Cardiac troponins. *J Clin Pathol.* 2004;57:1025–6.
40. Collinson PO, Boa FG, Gaze DC. Measurement of cardiac troponins. *Ann Clin Biochem.* 2001;38:423–29.
41. Rüegg JC. Cardiac contractility: how calcium activates the myofilaments. *Naturwissenschaften.* 1998;85:575-82.
42. Hamman BL, Bittl J A, Jacobus WE, Allen PD, Spencer RS, Tian R, *et al.* Inhibition of the creatine kinase reaction decreases the contractile reserve of isolated rat hearts. *Am J Physiol.* 1995; 269(3 Pt 2): H1030-6.
43. Drake-Holland AJ, Sitsapesan R, Herbaczynska-Cedro K, Seed WA. and Noble MIM. Effect of adrenaline on cardiac force-interval relationship. *Cardiovasc Res.* 1992;26:496-501.
44. Marcus ML, Chilian WM, Kanatsuka H, Dellsperger KC, Eastham CL, Lamping KG. Understanding the coronary circulation through studies at the microvascular level. *Circulation.* 1990; 82(1): 1-7.
45. Djuric DM, Wisotzki R, Mitrovic V. Homocysteine - A new cardiovascular risk factor? *Herz kreislauf.* 1999; 31: 485-90.
46. Zivkovic VI, Jakovljevic VLj, Djordjevic DZ, Vuletic MS, Barudzic NS, Djuric DM. The effects of homocysteine-related compounds on cardiac contractility, coronary flow, and oxidative stress markers in isolated rat heart. *Mol Cell Biochem.* 2012; 370: 59-67.
47. Jakovljevic VLj, Mujovic VM, Novokmet SS, Miloradovic MM, Djuric DM. Different effects of specific phosphodiesterase inhibitors on oxidative stress during coronary autoregulation in isolated rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34:A30-A30.
48. Perić T, Jakovljević VLj, Zivkovic V, Krkeljic J, Petrović ZD, Simijonović D, *et al.* Toxic effects of palladium compounds on the isolated rat heart. *Med Chem.* 2012;8:9-13.



49. Hong RA, Iimura T, Sumida KN, Eager RM. Cardio-oncology/onco-cardiology. *Clin Cardiol*. 2010;33:733–37.
50. Mendelsohn M, Karas R. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science*. 2005; 308:1583–87.
51. Deng S, Wojnowski L. Genotyping the risk of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol*. 2007;7:129-3.
52. Schimmel K, Richel D, Brink R, Guchelaar H-J. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs. *Cancer Treat Rev*. 2004;30:181–91.
53. Floyd JD, Nguyen DT, Lobins RL, Bashir Q, Doll DC, Perry MC. Cardiotoxicity of Cancer Therapy. *J Clin Oncol*. 2005;23:7685-96.
54. Dolci A, Dominici R, Cardinale D, Sandri MT, Panteghini M. Biochemical markers for prediction of chemotherapy-induced cardiotoxicity: systematic review of the literature and recommendations for use. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:688-95.
55. Pai VB, Nahata MC. Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents: incidence, treatment and prevention. *Drug Safety*. 2000;22:263–302.
56. Albin A, Pennesi G, Donatelli R, Cammarota S, De Flora, Noonan DM. Cardiotoxicity of Anticancer Drugs: The Need for Cardio-Oncology and Cardio-Oncological Prevention. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102:14-25.
57. Svoboda M, Poprach A, Dobes S, Kiss I, Vyzula R. Cardiac toxicity of targeted therapies used in the treatment for solid tumors: a review. *Cardiovasc Toxicol*. 2012;12:191–207.
58. Harbeck N, Ewer MS, De Laurentiis M, Suter TM, Ewer SM. Cardiovascular complications of conventional and targeted adjuvant breast cancer therapy. *Ann Oncol*. 2011;22:1250–58.
59. Cardinale D, Bacchiani G, Beggiato M, Colombo A, Cipolla CM. Strategies to prevent and treat cardiovascular risk in cancer patients. *Semin Oncol*. 2013;40:186-98.

60. Berardi R, Caramanti M, Savini A, Chiorrini S, Pierantoni C, Onofri A, *et al.* State of the art for cardiotoxicity due to chemotherapy and to targeted therapies: A literature review. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013;88:75–86.
61. Fang J, Seki T, Maeda H. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61:290-302.
62. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2001;82:47-95.
63. Ozben T. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *J Pharm Sci.* 2007;96:2181-96.
64. Rossi F, Fillippelli W, Russo S, Fillippelli A, Berrino L. Cardiotoxicity of doxorubicin: effects of drugs inhibiting the release of vasoactive substances. *Pharm Tox.* 1994;75: 99-107.
65. Vasquez-Vivar J, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Pritchard KA Jr, Kalyanaraman B. Endothelial nitric oxide synthase-dependent superoxide generation from adriamycin. *Biochem.* 1997;36:11293-97.
66. Rajagopalan S, Politi PM, Sinha BK, Myers CE. Adriamycin-induced free radical formation in the perfused rat heart: implications for cardiotoxicity. *Cancer Res.* 1988;48:4766-69.
67. Doroshov JH, Locker GY, Myers CE. Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites. *J Clin Invest.* 1980;65:128-35.
68. Li T, Singal PK. Adriamycin induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol. *Circulation.* 2000;102:2105-10.
69. Döring HJ, Dehnert H. The isolated perfused warm-blooded heart according to Langendorff. In: Döring C. *Methods in Experimental Physiology and Pharmacology. Biological Measurement Techniques.* Berlin, Germany: Biomesstechnik-Verlag, 1988;1-129.

70. Wang J, He D, Zhang Q, Han Y, Jin S, Qi, F. Resveratrol Protects Against Cisplatin-Induced Cardiotoxicity by Alleviating Oxidative Damage. *Cancer Biother Radiopharm.* 2009;24:675-80.
71. Galanski M, Keppler BK. Synthesis and characterization of new ethylenediamine platinum(IV) complexes containing lipophilic carboxylate ligands. *Met Based Drugs.* 1995;2:57-63.
72. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PI, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrite in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982;26:131-8.
73. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95:351-8.
74. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenwald RA. CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Boca Raton (FL, USA): CRC Press; 1985. pp.177-80.
75. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods.* 1980;38:161-70.
76. Pouna P, Bonoron-Adèle S, Gouverneur G, Tariosse L, Besse P, Robert J. Evaluation of anthracycline cardiotoxicity with the model of isolated, perfused rat heart: comparison of new analogues versus doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1995;35:257-61.
77. Wienen W, Jüngling E, Kammermeier H. Enzyme release into the interstitial space of the isolated rat heart induced by changes in contractile performance. *Cardiovasc Res.* 1994;8:1292-98.
78. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* 2007;39:175-91.

79. Vasic V, Momic T, Petkovic M, Krstic D. Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase as the target enzyme for organic and inorganic compounds. *Sensors (Basel)*. 2008;8:8321–60.
80. Reuter H. Ion channels in cardiac cell membranes. *Annu Rev Physiol*. 1984;46:473-84.
81. Yu SP. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase: the new face of an old player in pathogenesis and apoptotic/hybrid cell death. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:1601–9.
82. Ma H, Jones KR, Guo R, Xu P, Shen Y, Ren J. Cisplatin compromises myocardial contractile function and mitochondrial ultrastructure: role of endoplasmic reticulum stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2010;37:460-5.
83. Ramaciotti C, Sharkey A, McClellant G, and Winegrad S. Endothelial cells regulate cardiac contractility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:4033-6.
84. Jorgensen PL, Hakansson KO, Karlsh JD. Structure and mechanism of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:817–49.
85. Vasilets LA, Schwarz W. Structure–function relationships of cation binding in Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *Biochim Biophys Acta*. 1993;1154: 201-22.
86. Scheiner-Bobis G. The sodium pump. Its molecular properties and mechanics of ion transport. *Eur J Biochem*. 2002;269:2424-33.
87. Xie Z, Askari A. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem*. 2002;69:2434–9.
88. Xie Z, Cai T. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase-mediated signal transduction: From protein interaction to cellular function. *Mol Interv*. 2003;3:157–68.
89. Mijatovic T, Ingrassia L, Facchini V, Kiss R. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  subunits as new targets in anticancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2008;12:1403–17.
90. Krinulović K, Bugarčić Ž, Vrvic M, Krstić D, Vasić V. Prevention and recovery of ( $\mu$ 3-diethylentriamino)-chloro-palladium(II)-chloride induced inhibition of Na/K-ATPase by SH containing ligands – L-cysteine and glutathione. *Toxicol In Vitro*. 2006;20:1292–99.

91. Manoli I, Alesci S, Blackman MR, Su YA, Rennert OM, Chrousos GP. Mitochondria as key components of the stress response. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18:190–98.
92. O'Rourke B, Cortassa S, Akar F, Aon M. Mitochondrial ion channels in cardiac function and dysfunction. *Novartis Found Symp.* 2007;287:140–51.
93. Ara G, Kusumoto T, Korbitt TT, Cullere-Luengo F, Teicher BA. cis-Diamminedichloroplatinum(II) resistant human tumor cell lines are collaterally sensitive to PtCl<sub>4</sub>(Rh-123)<sub>2</sub>: evidence for mitochondrial involvement. *Cancer Res.* 1994;54:1497-502.
94. Cullen KJ, Yang Z, Schumaker L, Guo Z. Mitochondria as a critical target of the chemotherapeutic agent cisplatin in head and neck cancer. *J Bioenerg Biomembr.* 2007;39:43–50.
95. Murata T, Hibasami H, Maekawa S, Tagawa T, Nakashima K. Preferential binding of cisplatin to mitochondrial DNA and suppression of ATP generation in human malignant melanoma cells. *Biochem Int.* 1990; 20:949–55.
96. Garrido N, Pérez-Martos A, Faro M, Lou-Bonafonte JM, Fernández-Silva P, López-Pérez MJ, *et al.* Cisplatin-mediated impairment of mitochondrial DNA metabolism inversely correlates with glutathione levels. *Biochem J.* 2008;414:93-102.
97. Kerkelä R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, *et al.* Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med.* 2006;12: 908-16.
98. Hermansky SJ, Yang RS, Garman RH, Leung HW. Chronic toxicity and carcinogenicity studies of ethylenediamine dihydrochloride by dietary incorporation in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol.* 1999; 37:765-76.
99. Slesinski RS, Guzzie PJ, Hengler WC, Watanabe PG, Woodside MD, Yang RS. Assessment of genotoxic potential of ethylenediamine: in vitro and in vivo studies. *Mutat Res.* 1983;124:299-314.

100. DePass LR, Yang RS, Woodside MD. Evaluation of the teratogenicity of ethylenediamine dihydrochloride in Fischer 344 rats by conventional and pair-feeding studies. *Fundam Appl Toxicol.* 1987;9: 687-97.
101. Leung HW. Evaluation of the genotoxic potential of alkyleneamines. *Mutat Res.* 1994;320:31-43.
102. Herman TS, Teicher BA, Chan V, Collins LS, Kaufmann ME, Loh C. Effect of hyperthermia on the action of cis-diamminedichloroplatinum(II), rhodamine 123(2) [tetrachloroplatinum(II)], rhodamine 123, and potassium tetrachloroplatinate in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 1988;48:2335-41.
103. Yeh ETH, Tong AT, Lenihan DJ, Yusuf SW, Swafford J, Champion C, *et al.* Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management. *Circulation.* 2004;109:3122-31.
104. Jain D. Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *J Nucl Cardiol.* 2000;7:53-62.
105. Pouna P, Bonoron-Adèle S, Gouverneur G, Tariosse L, Besse P, Robert J. Development of the model of rat isolated perfused heart for the evaluation of anthracycline cardiotoxicity and its circumvention. *Br J Pharmacol.* 1996;117:1593-9.
106. Kukreja RC, Salloum FN, Das A. Cyclic guanosine monophosphate signaling and phosphodiesterase-5 inhibitors in cardioprotection. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59:1921-7.
107. Lippard SJ, Wang D. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4:307-20.
108. Demkow U, Stelmaszczyk-Emmel A. Cardiotoxicity of cisplatin-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients. *Res Physiol Neurobiol.* 2013;187: 64–7.

109. Tassinari D, Sartori S, Drudi G, Panzini I, Gianni L, Pasquini E, *et al.* Cardiac arrhythmias after cisplatin infusion: three case reports and a review of the literature. *Ann Oncol.* 1997;8:1263-7.
110. Ciftci O, Ozdemir I, Vardi N, Gurbuz N. Novel platinum-N-heterocyclic carbene complex is more cardiotoxic than cis-platin in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2011;30:1342-9.
111. Sabo TJ, Kaludjerovic GN, Poleti D, Karanovic L, Boccarelli A, Cannito F, *et al.* Cytotoxicity of some platinum (IV) complexes with ethylenediamine-N-N'-di-3-propionato ligand. *J Inorg Biochem.* 2004;98:1378-84.
112. Bogdanović G, Kojic V, Srdic T, Jakimov D, Djuran MI, Bugarcic ZD, *et al.* Growth Effects of Some Platinum(II) Complexes with Sulfur-Containing Carrier Ligands on MCF7 Human Breast Cancer Cell Line upon Simultaneous Administration with Taxol. *Met Based Drugs.* 2002;9:33-43.
113. Fletcher S, Turkson J, Gunning PT. Molecular Approaches towards the Inhibition of the Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (Stat3) Protein. *ChemMedChem.* 2008;3:1159-68.
114. Darley-Usmar V, Halliwell B. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharm Res.* 1996;13: 649–62.
115. Pešić S, Jakovljević V, Čubrilo D, Živković V, Jorga V, Mujović V, *et al.* Evaluacija oksidativnog statusa kod vrhunskih sportista-karatista u procesu treninga. *Vojnosanit Pregl.* 2009;66: 551–55.
116. Chirino YI, Pedraza-Chaverri J. Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Exp Toxicol Pathol.* 2009;61:223-42.
117. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740: 364-78.

118. Kozubík A, Vaculová A, Soucek K, Vondráček J, Turánek J, Hofmanová J. Novel Anticancer Platinum(IV) Complexes with Adamantylamine: Their Efficiency and Innovative Chemotherapy Strategies Modifying Lipid Metabolism. *Met Based Drugs* 2008; 2008: 417897.
119. Duranski MR, Greer JJ, Dejam A, Jaganmohan S, Hogg N, Langston W, *et al.* Cytoprotective effects of nitrite during in vivo ischemia-reperfusion of the heart and liver. *J Clin Invest.* 2005; 5:1232-40.
120. França-Silva M, Balarini C, Cruz J, Khan B, Rampelotto P, Braga V. Organic Nitrates: Past, Present and Future. *Molecules.* 2014;19:15314-23.
121. Vejpongsa P, Yeh ET. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64:938-45.
122. Truong J, Yan AT, Cramarossa G, Chan KK. Chemotherapy-induced cardiotoxicity: detection, prevention, and management. *Can J Cardiol.* 2014;30:869-78.
123. Tokarska-Schlattner M, Zaugg M, da Silva R, Lucchinetti E, Schaub MC, Wallimann T, *et al.* Acute toxicity of doxorubicin on isolated perfused heart: response of kinases regulating energy supply. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;289:H37-47.
124. Beattie DS. Bioenergetics and Oxidative Metabolism. In: Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. Devlin TM. 5th edition, USA, New York: Wiley-Liss, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, 2002.
125. Nagley P, Higgins GC, Atkin JD, Beart PM. Multifaceted deaths orchestrated by mitochondria in neurons. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802:167-85.
126. Tsutsui H. Oxidative stress in heart failure: the role of mitochondria. *Intern Med.* 2001;40:1177-82.



127. Misic MM, Jakovljevic VL, Bugarcic ZD, Zivkovic VI, Srejovic IM, Barudzic NS, *et al.* Platinum Complexes-Induced Cardiotoxicity of Isolated, Perfused Rat Heart: Comparison of Pt(II) and Pt(IV) Analogues Versus Cisplatin. *Cardiovasc Toxicol* 2014 Nov 18. [DOI:10.1007/s12012-014-9293-8].

## 8. ПРИЛОГ

### 8.1. КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

<b>Редни број:</b> РБ	
<b>Идентификациони број:</b> ИБР	
<b>Тип документације:</b> ТД	Монографска публикација
<b>Тип записа:</b> ТЗ	Текстуални штампани материјал
<b>Врста рада:</b> ВР	Докторска дисертација
<b>Аутор:</b> АУ	Мирослав Мишић
<b>Ментор/коментор:</b> МН	Проф. др Слободан Новокмет
<b>Наслов рада:</b> НР	Ефекти Pt(IV) комплекса на контрактилност, коронарни проток и оксидативни стрес изолованог срца пацова
<b>Језик публикације:</b> ЈП	Српски (ћирилица)
<b>Језик извода:</b> ЈИ	Српски
<b>Земља публикавања:</b> ЗП	Република Србија
<b>Уже географско подручје:</b> УГП	Шумадијски округ
<b>Година:</b> ГО	2015
<b>Издавач:</b> ИЗ	Ауторски репринт
<b>Место и адреса:</b> МС	34000 Крагујевац, Улица Светозара Марковића број 69
<b>Физичи опис рада:</b> ФО	91/1/14/9/127
<b>Научна област:</b>	Медицина
<b>Научна дисциплина:</b> ДИ	Експериментална физиологија
<b>Предметна одредница/ кључне речи</b> ПО	Ефекти, Pt(IV) комплекси, контрактилност, коронарни проток, оксидативни стрес, изоловано срце пацова

<p><b>Извод:</b> <b>ИД</b></p>	<p><b>Циљ</b> ове студије је био да испита евалуација ефеката акутне администрације Pt(IV)-комплекса, калијум-тетрахлороплатината (II), цисплатине, 1,2-диаминоциклохексана и етилен-диамина на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.</p> <p><b>Метод.</b> У студији је анализирано 84 пацова (Вистар албино сој, мушки пол, старости 8 недеља, телесне масе 250±50г) којима се изоловало срце и перфундовало методом ретроградне перфузије по Лангендорфу (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary) при константном коронарном перфузионом притиску од 70 cm H<sub>2</sub>O. Истраживање је било подељено у петнаест (7) експерименталних група. Вредност коронарног протока су одређиване флоуметријски. Уз помоћ сензора у левој комори срца континуирано су праћени параметри функције леве коморе. Из узорака коронарног венског ефлуента одређивани су параметри оксидационог стреса и ензими некрозе миокарда.</p> <p><b>Резултати</b> истраживања су приказани на 14 табели и 9 графикана. Сумарно посматрано, све акутно апликоване супстанце су изазвале негативан ефекат на изолованом срцу пацова. Перфундовање срца са Pt(IV) комплексима изазвало је дозно-зависно снижење коронарног протока.</p> <p><b>Закључак.</b> Директни ефекти Pt(IV)-комплекса ([PtCl<sub>4</sub>(en)] и [PtCl<sub>4</sub>(dach)]) и етилендиамин на изоловано срце пацова били доминантно ограничени на коронарни ендотел, а мање на срчани мишић.</p>
<p><b>УДК</b></p>	
<p><b>Чува се:</b> <b>ЧУ</b></p>	<p>У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Република Србија</p>
<p><b>Важна напомена:</b> <b>МН</b></p>	
<p><b>Датум прихватања теме од стране ННВ:</b></p>	<p>10.07.2013. године</p>

<b>ДП</b>	
<b>Датум одбране:</b> <b>ДО</b>	
<b>Чланови комисије:</b> <b>КО</b>	<p>1. Проф. др Живадин Бугарчић – председник, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Неорганска хемија</p> <p>2. Проф. др Владимир Јаковљевић – члан, редовни професор редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија</p> <p>3. Проф. др Драган Ђурић - члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија.</p>

## 8.2. KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC

<b>Accession number:</b> ANO	
<b>Identification number:</b> INO	
<b>Documentation type:</b> DT	Monographic publication
<b>Type of record:</b> TR	Textual material, printed
<b>Contents code:</b> CC	PhD thesis
<b>Author:</b> AU	Miroslav Mišić
<b>Menthor/co-mentor</b> MN	Prof. Slobodan Novokmet, MSc, PhD
<b>Title:</b> TI	Effects of the Pt (IV) complex of the contractility and coronary flow, oxidative stress in isolated rat heart
<b>Language of text:</b> LT	Serbian (cyrilic)
<b>Language of abstract:</b>	Serbian/English
<b>Country of publication:</b> CP	Republic of Serbia
<b>Locality of publication:</b> LP	Šumadija manucipality
<b>Publication year:</b> PY	2015
<b>Publisher:</b> PU	Author`s reprint
<b>Publication place:</b> PP	34000 Kragujevac, Svetozara Markovica Street, 69
<b>Physical description</b> PD	91/1/14/9/127
<b>Scientific field:</b> SF	Medicine
<b>Scientific discipline:</b> SD	Experimental physiology
<b>Subject/key words:</b> SKW	Effects, Pt (IV) complexes, contractility, coronary flow, oxidative stress, isolated rat heart

<p><b>Abstract:</b> <b>AB</b></p>	<p>The aim of this study was to examine the evaluation of the effects of acute administration of Pt (IV) complexes, potassium tetrachloro-platinata (II), cisplatin, 1,2-diamino-cyclohexane and ethylene diamine in cardiac muscle and coronary circulation in isolated rat heart.</p> <p>Method. The study analyzed 84 rats (Wistar albino strain, male gender, age 8 weeks, body weight <math>250 \pm 50</math> g) which isolate the heart and retrograde perfusion method perfundovalo by Langendorf (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd., 1062 Budapest, Hungary) at constant coronary perfusion pressure of 70 cm H<sub>2</sub>O. The study was divided into fifteen (7) of the experimental group. The value of coronary flow were determined floumetrijski. With the help of sensors in the left ventricle of the heart are continuously monitored parameters of left ventricular function. Samples from the coronary venous effluent were determined parameters of oxidative stress and enzymes of myocardial necrosis.</p> <p>The research results are shown in Table 14 and Chart 9. In summary, all acutely administrated substances have caused a negative effect on the isolated rat heart. Perfundovanje heart with Pt (IV) complex showed a dose-dependent decrease of coronary blood flow.</p> <p>Conclusion. Direct effects of Pt (IV) complexes ([PtCl<sub>4</sub>(en)] and [PtCl<sub>4</sub>(dach)]) and ethylenediamine in the isolated rat heart were predominantly limited to the coronary endothelium, and less to the heart muscle.</p>
<p><b>UDC</b></p>	
<p><b>Holding data:</b> <b>HD</b></p>	<p>Library of Faculty of medical sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia</p>
<p><b>Note:</b> <b>N</b></p>	
<p><b>Accepted by the Scientific Board on:</b> <b>ASB</b></p>	<p>10.07.2013.</p>
<p><b>Defended on:</b> <b>DE</b></p>	

<p><b>Thesis defended board</b>  <b>(Degree/name/surname/title/faculty)</b>  <b>DB</b></p>	<p>1. Prof. Živadin Bugarčić, PhD - President, full professor Faculty of Science, University of Kragujevac for scientific disciplines Inorganic Chemistry.</p> <p>2. Prof. Vladimir Jakovljevic, PhD - Member, full professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac for scientific disciplines Physiology.</p> <p>3. Prof. Dragan Djuric, PhD - Member, full professor of Medicine, University of Belgrade for scientific disciplines Physiology.</p>
--	--

### 8.3. БИОГРАФИЈА АУТОРА

Мр Мирослав Мишић је рођен 03.06.1975. године у Пожаревцу. Основну школу је завршио у Голупцу, а Гимназију у Великом Градишту. Од 1994. до 1995. године био је на редовном одслужењу војног рока.

Након одслужења војног рока уписао је Вишу медицинску школу у Београду –Земуну, на којој је дипломирао 01.06.1998. године. Септембра 1998. године уписао је Дефектолошки факултет у Београду. Студије је прекидао због учешћа у рату 1999. године. Крајем 1999. године почео је да ради на Универзитетској Дечјој клиници у Београду. Дефектолошки факултет је завршио 21.03.2003. године.

Од почетка школске 2004/05. године ради као сарадник на Високој здравственој школи струковних студија у Београду-Земуну, на смеру Виших радиолошких техничара.

Године 2005. уписао је студије за стицање академског назива Магистар наука на Дефектолошком факултету у Београду. Од 2009. године ради на Високој здравственој школи струковних студија у Београду – Земуну, смер за Струковне медицинске радиологе. Магистрирао је 07. 04. 2011. године на тему „Злостављање деце и здравствени радници“.



#### 8.4. БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Мишић М**, Петровић Н. Перцепција здравствених радника која се односи на број и карактеристике деце жртава злостављања и злостављаче. Здравствена заштита 2012; 4:71-76. **М53 – 1 бод**
2. Petkovic N, Petrovic Macesic D, Balos V, **Misic M**, Djordjevic M. Burnout syndrome among special education professionals. Health MED Journal 2012; 6 (10):3403-3412. **М23 – 3 бода**
3. **Misic M**, Eminovic F, Milenovic L, Mirkovic S. Detecting and reporting child abuse by health workers in Serbia. Health MED Journal 2013; 7 (4):1300-1306. **М23 – 3 бода**
4. **Мишић М**, Китановић К, Петровић Н. Ставови здравствених радника према злостављању деце и према заштити злостављане деце. Здравствена заштита 2014; 1:23-31. **М53 – 1 бод**
5. **Мишић М**, Китановић К. Четири деценије рада Радиолошког одсека при Високој здравственој школи струковних студија у Београду. Здравствена заштита 2014; 5:71-75. **М53 – 1 бод**
6. **Miroslav M. Misic**, Vladimir L. Jakovljevic, Zivadin D. Bugarcic, Vladimir I. Zivkovic, Ivan M. Srejovic, Nevena S. Barudzic, Dragan M. Djuric, Slobodan S. Novokmet. Platinum Complexes-Induced Cardiotoxicity of Isolated, Perfused Rat Heart: Comparison of Pt(II) and Pt(IV) Analogues Versus Cisplatin. Cardiovasc Toxicol 2014; Nov: 767-774. DOI 10.1007/s12012-014-9293-8. **М22 – 5 бодова**

## 8.5. ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<b><i>I. Аутор</i></b>	
Име и презиме:	Мирослав Мишић
Датум и место рођења:	03.06.1975, Пожаревац, Република Србија
Садашње запослење:	Предавач на Високој Здравственој школи струковних студија у Београду.
<b><i>II. Докторска дисертација</i></b>	
Наслов:	Ефекти Pt(IV) комплекса на контрактилност, коронарни проток и оксидативни стрес изолованог срца пацова.
Број страница:	91
Број слика:	1
Број табела:	14
Број графикана:	9
Број библиографских података:	127
Установа и место где је рад израђен:	Лабораторија за кардиоваскуларну физиологију, Институт Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац
Научна област (УДК):	Медицина, Физиологија
Ментор:	Проф. др Слободан Новокмет
<b><i>III. Оцена и одбрана</i></b>	
Датум пријаве теме:	11.02.2013. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	01-6596/3-9 10.07.2013. године
Комисија за оцену подобности теме и кандидата:	Проф. др Живадин Бугарчић – председник Проф. др Драган Ђурић – члан Проф. др Слободан Новокмет – члан

Комисија за оцену докторске дисертације:	Проф. др Живадин Бугарчић – председник Проф. др Владимир Јаковљевић – члан Проф. др Драган Ђурић - члан
Комисија за одбрану докторске дисертације:	Проф. др Живадин Бугарчић – председник Проф. др Владимир Јаковљевић – члан Проф. др Драган Ђурић - члан
Датум одбране дисертације:	