



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Милош С. Глишић

**Прекондиционирање исхемијско
реперфузионе повреде срца
пацова различитим типовима
тренажних процеса**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2024. године



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Miloš S. Glišić

**Prekondicioniranje ishemijsko reperfuzione
povrede srca pacova različitim tipovima
trenažnih procesa**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2024.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Milos S. Glisic

**Preconditioning of rat heart ischemia
reperfusion injury with different types of
training processes**

Doctoral dissertation

Kragujevac, 2024.

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

<i>Autor</i>
Ime i prezime: Miloš Glišić
Datum i mesto rođenja: 14.10.1992. godine, Kragujevac, Republika Srbija
Sadašnje zaposlenje: Asistent na Fakultetu medicinskih nauka za užu naučnu oblast Morfologija antropometrije
<i>Doktorska disertacija</i>
Naslov: Prekondicioniranje ishemijsko reperfuzione povrede srca pacova različitim tipovima trenajnih procesa
Broj stranica: 92
Broj slika: 2 slike, 15 tabela, 31 grafik
Broj bibliografskih podataka: 197
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac
Naučna oblast (UDK): medicina
Mentor: Prof. dr Vladimir Živković
<i>Ocena i odbrana</i>
Datum prijave teme: 30.12.2022.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: IV-03-172/13 od 21.03.2023.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;2. Doc. dr Tamara Nikolić Turnić, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Klinička farmacija, član;3. Prof. dr Dragan Radovanović, redovni profesor Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja Univerziteta u Nišu za užu naučnu oblast Fiziologija, član.
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:
Datum odbrane disertacije:

DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

<i>Author</i>
Name and surname: Milos Glisic
Date and place of birth: 14.10.1992., Kragujevac, Republic of Serbia
Current employment: Assistant at the Faculty of Medical Sciences for the scientific field Morphology of anthropometry
<i>Doctoral Dissertation</i>
Title: Preconditioning of ischemia reperfusion injury of rat heart by different types of training processes
No. of pages: 92
No. of images: 2 images, 15 tables, 31 graphs
No. of bibliographic data: 197
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine
Mentor: Full prof. Vladimir Zivkovic
<i>Grade and Dissertation Defense</i>
Topic Application Date: 30.12.2022.
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic: no IV-03-172/13 from 21.03.2023.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljevic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;2. Doc. dr Ivan Srejovic, Assistant Professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Clinical pharmacy, member;3. Prof. dr Dragan Radovanovic, Full professor at the Faculty of sport and physical education, University of Nis, Physiology, member.
Commission for evaluation and defense of the doctoral dissertation:
Date of Dissertation Defense:

Сажетак

Подаци о утицају различитих типова тренажних активности на функционални опоравак срца након исхемијско/реперфузионог оштећења су још увек јако неусаглашени. Додатни проблем представља чињеница, да и даље није познато који тип тренинга и његовог интензитета (аеробни или анаеробни) остварује најбоље резултате у прекондиционирању миокарда. Циљ ове студије је испитивање ефеката прекондиционирања вежбањем на анималном моделу исхемијско/реперфузионе повреде (И / Р) миокарда пацова односно утврђивање утицаја различитих типова тренажних процеса на И / Р, као и улоге оксидационог стреса у добијеним ефектима. Студија је спроведена на 40 пацова разврстаних у једну контролну (седентерни пацови) и четири експерименталне групе. Пацови из експерименталних група су били подвргнути тренажном протоколу прекондиционирања трчањем и пливањем (у аеробној и анаеробној форми). Након тренажних протокола животиње су жртвоване, а изолована срца перфундована методом ретроградне перфузије по Langendorff-у при константном коронарном перфузионом притиску од 70 cmH₂O. Након стабилизације, срца су била подвргнута глобалној исхемији у трајању од 20 минута, а потом и реперфузији у трајању од 30 минута. Вредности коронарног протока су биле одређиване флоуметријски, а параметри функције леве коморе (dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP и HR) су континуирано праћени. У узорцима коронарног венског ефлуента, као и у крви пацова спектрофотометријским методама су одређивани параметри оксидационог стреса. Стандардном хистолошком анализом су утврђиване промене на срцу и квадрицепсу. Обе врсте тренинга само при аеробним интензитетима довеле су до ефикаснијег опоравка већине кардиодинамских показатеља, док у анаеробним зонама нису успеле да остваре боље ефекте у односу на седатерне пацове. Осим тога, обе врсте тренинга биле су повезане са повећаном продукцијом срчаних про-оксиданаса, при чему је анаеробни интензитет довео до највећег пораста њихове продукције.

Кључне речи: прекондиционирање, трчање, пливање, исхемија/реперфузија, изоловано срце, пацов

Abstract

Data on the effects of different types of training activities on the functional recovery of the heart after ischemia/reperfusion damage are still very inconsistent. An additional problem is the fact that it is still not known which type of training and its intensity (aerobic or anaerobic) achieves the best results in myocardial preconditioning. The aim of this study was examination of the effects of exercise preconditioning on an animal model of ischemia/reperfusion injury (I/R) of the rat myocardium, i.e. determination of the influence of different types of training processes on I/R, as well as the role of oxidative stress in the obtained effects. The study was conducted on 40 rats classified into one control (sedentary rats) and four experimental groups. Rats from the experimental groups were subjected to a training protocol of preconditioning by running and swimming (in aerobic and anaerobic form). After the training protocols, the animals were sacrificed, and the isolated hearts were perfused using the Langendorff retrograde perfusion method at a constant coronary perfusion pressure of 70 cmH₂O. After stabilization, hearts were subjected to global ischemia for 20 min and then reperfusion for 30 min. Coronary flow values were determined flowmetrically, and left ventricular function parameters (dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP and HR) were continuously monitored. Oxidative stress parameters were determined in samples of coronary venous effluent, as well as in the blood of rats using spectrophotometric methods. Changes in the heart and quadriceps were determined by standard histological analysis. Both types of training only at aerobic intensities led to more efficient recovery of most cardiodynamic parameters, while in anaerobic zones they failed to achieve better effects compared to sedentary rats. In addition, both types of training were associated with increased production of cardiac pro-oxidants, with anaerobic intensity leading to the greatest increase in their production.

Key words: preconditioning, running, swimming, ischemia/reperfusion, isolated heart, rat

САДРЖАЈ

I	УВОД	1
1.1.	Утицај физичке активности и вежбања на кардиоваскуларни систем.....	2
1.1.2.	Плазма липиди и атерогенеза	3
1.1.3.	Осетљивост на инсулин.....	4
1.1.4.	Крвни притисак	5
1.1.5.	Срчана адаптација.....	5
1.1.6.	Крв и васкулатура	7
1.2.	Тренинг умереног и тренинг високог интензитета.....	9
1.3.	Концепт исхемијско - реперфузионе повреде и феномен прекондиционарања срца	11
1.4.	Кардиопротективни ефекти вежбања у исхемијско-реперфузионој повреди	16
II	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА	21
2.1.	Циљеви истраживања.....	22
2.2.	Хипотезе истраживања.....	22
III	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	24
3.1.	Врста студије.....	25
3.2.	Популација која се истражује	25
3.3.	Узорковање.....	25
3.4.	Варијабле које се мере у студији.....	28
3.5.	Снага студије и величина узорка	29
3.6.	Статистичка анализа резултата	29
IV	РЕЗУЛТАТИ	30
4.1.	Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на кардиодинамске параметре изолованог срца пацова	31
4.2.	Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту	43
4.3.	Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у плазми	51
4.4.	Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у еритроцитима	54
4.5.	Хистолошка анализа	56
4.5.1.	Дијаметар срчане мишићне ћелије.....	56

4.5.2. Површина срчане мишићне ћелије.....	57
4.5.3. Хистолошки опис слика срца.....	58
4.5.4. Дијаметар скелетне мишићне ћелије квадрицепса	59
4.5.5. Површине скелетне мишићне ћелије квадрицепса	60
4.5.6. Хистолошки опис слика квадрицепса	60
V ДИСКУСИЈА	62
VI ЗАКЉУЧЦИ	77
VII ЛИТЕРАТУРА	79

І УВОД

1.1. Утицај физичке активности и вежбања на кардиоваскуларни систем

Кардиоваскуларне болеси су водећи узрок морбидитета и морталитета широм света. У Сједињеним Америчким Државама кардиоваскуларне болести узрокују око 600.000 смртних случајева на годишњем нивоу (25%), (1) и након сталног пада у последњих пет деценија, његова инциденца још увек расте. Поред многих фактора ризика који су предиспонирани за развој и напредак кардиоваскуларних болести, седентарни начин живота, типичан за стално низак ниво физичке активности, сада је познат као водећи узрок кардиоваскуларних обољења. Насупрот томе, редовна физичка активност је повезана са изузетно широко распрострањеним здравственим бенефитима, и знатно нижим ризицима за појаву кардиоваскуларних болести.

Поједине студије доказале су да је повећана физичка активност повезана са смањењем свих узрока смртности и може скромно повећати животни век, утицајем који је уско повезан са падом ризика развоја кардиоваскуларних и респираторних болести (2). Доследно са овим мишљењем, степен смртности међу мушкарцима и женама био је обрнуто повезан са нивоима кардиореспираторне кондиције, чак и у присуству других предиктора кардиоваскуларног морталитета, као што су пушење, хипертензија и хиперлипидемија.

Штавише, већи ниво физичке кондиције, како код мушкараца тако и код жена, може делимично преокренути високе стопе морталитета од кардиоваскуларних болести код особа са високим индексом телесне масе. Недавни рад је показао да је физичка активност повезана са побољшањем инфламаторног профила, као и да смањује ризик од срчане инсуфицијенције и повећава преживљавање након 30 година праћења код особа са коронарном болешћу (3).

Упркос јасном и повољном ефекту физичке активности и вежбања за кардиоваскуларно здравље, процеси и механизми којима физичке активности унапређује кардиореспираторну функцију и смањују ризик од кардиоваскуларних болести, још увек остају нејасани. Током неколико протеклих деценија, знатан истраживачки напор имао је за циљ да идентификује главни физиолошки и биохемијски допринос кардиоваскуларног вежбања. Као резултат тога значајни напредак је направљен у студијама како на људској популацији тако и на моделима експерименталних животиња.

Сходно овоме, у поменутиим студијама постигнут је консензус о позитивним ефектима вежбања и физичке активности на главне факторе повезане са ризиком лошег кардиоваскуларног здравља укључујући липиде, хипертензију и ендотелну дисфункцију. Такође, у овим истраживањима су расветљене и термилошке недоумице које се односе на разлику између вежбања и физичке активности. Тако је вежбање дефинисано као подскуп физичке активности који је планиран, структуриран и поновљив и има као крајњи или средњи циљ побољшање или одржавање физичке кондиције. Ове карактеристике разликују вежбање од мање структуриране и планиране физичке активности, која често није само у сврху одржавања или побољшања физичке кондиције (2-4). Ова термилошка прецизност је од суштинског значаја у разумевању и разликовању позитивних утицаја које физички напор остварује код особа са кардиоваскуларним болестима. Лонгитудиналне студије најдуже трајања су пратиле утицаје физичке активности, док су студије кратког трајања испитивале ефекте вежбања (2-4).

1.1.2. Плазма липиди и атерогенеза

С обзиром на централну улогу липида у плазми као кључних детерминанти кардиоваскуларног ризика, многе студије су тестирале да ли редовна физичка активност може смањити ризик од кардиоваскуларних обољења утичући на нивое циркулишућих липопротеина. Истраживања су открила да је тренинг повезан са повишеним вредностима циркулишућих липопротеина високе густине (HDL) и, у мањој мери, са смањеним вредностима триглицерида. Обе промене у вредностима могу смањити ризик од појаве коронарне болести срца (5). Ипак, резултати који се тичу ефекта физичке активности на липиде у плазми, били су променљиве и збуњујуће категорије, очигледном зависношћу од врсте, интензитета и трајање физичке активности као и дијета. Осим тога, показано је да студије које су имале за циљ утврђивање ефеката физичке активности на ниво липопротеина ниске густине (LDL) нису тестирале зависност од дозе вежбања (5, 6).

Иако су виши нивои HDL-а повезани са нижим ризиком од кардиоваскуларних обољења, недавне студије су сугерисале да поједине фармаколошке интервенције које поседују улогу у повећавању нивоа HDL-а у плазми, не успевају ипак да смање ризик од појаве кардиоваскуларних поремећаја (7, 8). Ипак, концентрација HDL честица је кључна детерминанта, што указује да величина HDL честица може бити важна детерминанта ризика од кардиоваскуларних обољења. Дакле, повећање у концентрацији LDL и HDL честица и смањење концентрације VLDL честица (липопротеини веома ниске густине) може бити повезан са нижим ризиком од кардиоваскуларних обољења. У сагласности са овим ставом, недавна студија која се бавила истраживањем ефекта вежбања зависне од дозе холестерола, састојала се од шест различитих доза вежбања. Студија је показала значајно повећање HDL-а холестерола након вежбања (9). Стога, чак иако вежбањем плазма липидни профил доживљава промене а HDL концентрација и величина честица се повећава, умерено вежбање може произвести само ограничене ефекте на HDL функционалност. Због тога свеукупно смањење кардиоваскуларног ризика вежбањем остаје нејасно (6).

Осим промена плазма липида, вежбање може директно утицати на хомеостазу артеријског зида да би антагонизовало прогресију атеросклеротске болести и тиме допринело смањењу болести коронарних артерија код особа са активним начином живота, у поређењу са особама које проводе већину времена у седентарном положају. Код пацијената са стабилним кардиоваскуларним болестима, четири недеље веслања или вожње бицикле може довести до побољшања реакције вазодилатације на ацетихолин који је био повезан са повећањем укупне ендотелне азот моноксид синтезе (eNOS) и фосфорилације протеинске киназе Б (10). Овакав тип вежбања стимулише производњу азот монооксида (NO) који има протективне ендотелне ефекте. На пример, уочено је да каротидне артерије ApoE -/- мишева подвргнутих вежбању имају повишену експресију eNOS-а у поређењу са животињама из седентарне ApoE -/- контролне групе мишева. Насупрот томе, аорта код седентарних мишева, испољава повећан ниво васкуларне липидне пероксидације и ниво супероксид анјон радикала, који може допринети ендотелиалној дисфункцији и формирању атеросклеротских лезија, у поређењу са мишевима подвргнутим шестонедељном трчању (11).

Редовна физичка активност код LDL нокаут мишева са високим нивоом холестерола, делује протективно на интегритет ендотела, смањује регрутовање инфламаторних ћелија и спречава калцификацију аортног залистка, што повећава могућност да физичка активност може смањити развој и напредовање дегенеративне

болести аортног вентила. Упркос овим доказима, остаје нејасно у којој мери корисне промене липида у крви и васкуларној функцији доприносе кардиоваскуларној хомеостази. Сходно наведеном, потребне су даље студије ради квантификације липид-независних утицаја физичке активности (9-11).

1.1.3. Осетљивост на инсулин

Повезаност између липида у крви и кардиоваскуларног здравља је под великим утицајем системске инсулинске осетљивости и резистенције на инсулинску сигнализацију (12). Отпорност адипоцита на дејство инсулина и смањени пораст концентрације глукозе доводи до повећаног ослобађања слободних масних киселина и веће производње и ослобађања триглицерида и VLDL. Осим тога, смањени нивои HDL-а у инсулин резистентном стању сузбијају обрнути транспорт холестерола из артеријског зида и промовишу формирање атеросклеротског плака (13).

Инсулинска сигнализација унутар васкуларног ендотелијума промовише акт зависне фосфорације и активира eNOS који производи NO. Ово је међутим антагонизовано од стране активације сигналног пута Ras-RAF-MAPK која стимулише раст и диференцијацију ћелија и повећава производњу потентног вазоконстриктора-ендотелина 1 (ET-1). У дијабетесу, селективна инхибиција PI3K-Akt-eNOS сигналне каскаде, заједно са компензационом хиперинсулинемијом доводи до формирања и стимулације производње ендотелина 1, што може допринети развоју атеросклеротског плака, као и болести периферних артерија (14, 15). Ефикаснија ендотелна производња и лучење ET-1 заједно са његовом појачаном активношћу може представљати кључни допринос фактора побољшања вазоконстрикције малих артерија и артериола, током инсулинске резистенције, чиме се повећава системска васкуларна отпорност и подиже крвни притисак. Осим тога, код дијабетеса и инсулинске резистенције, повишен ниво глукозе у крви такође убрзава формирање напредних гликацијских завршних производа (AGE), протеина и липида који су подвргнути неензимској гликацији и оксидацији, што доводи до поремећеног односа колагена и еластичних влакана у зиду артерија.

Бројне студије су показале да особе са дијабетесом типа 1 и типа 2, имају повећану осетљивост на инсулин и побољшану гликемијску контролу након тренажних активности (16). Такође, установљено је да је чак и вежбање ниског интензитета (50% VO₂ мах, 350 потрошених килокалорија) значајно побољшава осетљивост на инсулин. Студије рађене на животињским моделима сугеришу да физичка активност може увећати осетљивост на инсулин у масном ткиву, скелетном мишићу и ендотелу крвних судова (17, 18).

Док је тренутно разумевање прецизних молекулских механизма укључених у унапређење инсулинске сигнализације након вежбања отежано услед широког дијапазона врста и протокола вежбања, изгледа да је степен физичке кондиције повезан са адаптивним ремоделирањем у експресији и регулацији једне или више компоненти инсулинског рецептора/супстрата инсулинског рецептора (50-52).

Током вежбања, ниво инсулина се благо смањује и често мишић испољава већу ефикасност преузимања глукозе путем побољшане активности глукозног транспортера 4 (GLUT4). Штавише, оштећење мишића повезано са ексцентричним вежбањем може парадоксално изазвати повећану резистентност на инсулин путем TNF- α -посредним смањењем PI3K сигналне активности (19, 20).

1.1.4. Крвни притисак

Током вежбања, повећава се ударни волумен и фреквенца срца чиме се повећава и минутни волумен срца. Ове срчане адаптације су праћене пролазним порастом системског васкуларног отпора и повишеним вредностима артеријског крвног притиска. Међутим, дугорочно вежбање може промовисати нето смањење крвног притиска током мировања. Контролисане интервентне студије су показале да редовно вежбање умереног до високог интензитета у трајању 3-5 пута недељно утиче на снижавање крвног притиска у просеку 3.4/2.4mmHg (21, 22).

Сматра се да нижи крвни притисак који настаје као последица хроничне физичке активности аеробног типа, увелико води хроничном смањењу системског периферног отпора. Овом ефекту доприносе ослобођени метаболити из активних скелетних мишића током вежбања који стимулишу производњу азот монооксида и простагландина из васкуларног ендотелијума, који са своје стране побољшавају вазодилацију путем релаксације васкуларних глатких мишића. Овај утицај посебно је важан јер смањење у eNOS активностима до којих долази са старењем доприноси хипертензији. Дугорочно вежбање повећава експресију eNOS као и продукцију NO код хипертензивних индивидуа, доследно са снижавањем крвног притиска кроз ефекат физичке активности. Значај NO у посредовању васкуларног ефекта вежбања додатно поткрепљују резултати који показују да пацови са хипертензијом изазваном хроничном инхибицијом NOS подвргнути режиму вежбања пливања током 6 недеља значајно повећавају експресију eNOS и побољшавају вазодилатацију изазвану ацетилхолином (23).

Стога, повећање у продукцији NO представља битан фактор који допринос напретку ендотелијум зависне вазодилатације која прати тренажне активности, чиме се смањује периферни отпор и снижава крвни притисак. Међутим, уз NO-посредно смањење периферног отпора, адаптивно снижење нервне активности и сузбијање запаљенске реакције, такође вероватно доприносе ефектима вежбања (24).

1.1.5. Срчана адаптација

Током вежбања, срце је подвргнуто периодичним хемодинамским стресовима проузрокованих или повећаним притиском, или повећаним волуменом, или удруженим дејством оба фактора. Да би се нормализовао такав стрес и задовољила системска потражња за повећаним потребама крви, срце трпи морфолошку адаптацију на вежбање повећањем његове масе, првенствено кроз повећање дебљина зида леве коморе. Адаптивно промене срца као одговор на вежбање се обично јавља уз очување или побољшање контрактилне функције. Ово је у супротности са патолошком ремоделацијом срца услед хронично повећаног накнадног оптерећења (нпр. током хипертензије или аортне стенозе), која може прогредирати у срчану инсуфицијенцију (25).

Недавно истраживање на експерименталним моделима вежбања код животиња је идентификовао неколико ћелијских и молекулских промена које су укључене у срчане адаптације узроковане вежбањем. Док је патолошка модификација срца повезана са смањењем производње енергије путем оксидације масних киселина и више се ослањања на искоришћеност глукозе, миотхондријска енергетска биогенеза и капацитет за оксидацију масних киселина се појачавају након вежбања (25). Једна од студија је сугерисала да промене у гликолитичкој активности миокарда током акутног вежбања и накнадног периода опоравка, такође могу играти важну улогу у регулисању експресије метаболичких гена и ремоделацији миокарда.

У студијама је такође откривена доминантна улога инсулина сличног фактору раста 1 (IGF-1) и PI3K/Akt1 сигналног пута који индукују активацију транскрипционих путева повезаних са синтезом протеина и хипертрофијом. Остале студије су идентификовале друге важне детерминанте транскрипционог програма који покреће хипертрофични одговор изазван вежбањем. На пример, забележено је смањење експресије гена за ССААТ' везујући протеин β (С/ЕВР β) што је повезано срчаном хипертрофијом (26, 27). Други транскрипциони путеви за које се зна да су активирани патолошким стимулансима и срчаном хипертрофијом, као што је NFATc2, се смањују током вежбања, чиме се пружају докази да неки путеви сигнализације активирани током вежбања могу директно антагонизовати специфичне факторе који промовишу патолошко ремоделовање срца (26, 27).

Поред метаболичких и молекулских промена, вежбање такође може изазвати функционалну адаптацију срца, и на крају може повећати минутни волумен срца и смањити ризик од аритмија. Клиничке студије су показале да особе који вежбају имају побољшану систолну и дијастолну функцију, док су резултати студија на анималним моделима показали да тренинга издржљивости повећава брзину и снагу контракције кардиомиоцита уз истовремено ефикаснију релаксацију (28, 29).

Овај ефекат вежбања на контрактилну функцију кардиомиоцита може бити повезан са променама у стопама пораста и опадања концентрације интрацелуларног Ca^{2+} , вероватно због боље ефикасности: L-типа Ca^{2+} канала, субсарколемалних ријанодинских рецептора типа 2 (RyR) (ослобађање калцијума изазвано калцијумом), Ca^{2+} АТФ-азе саркоендоплазматског ретикулума (SERCA2a) и натријум-калцијум измењивача (NCX) на мембрани кардиомиоцита (28, 29).

Током патолошког ремоделовања срца, електрична нестабилност може бити последица недостатка регулације срчаних јонских канала повезаних са реполаризацијом које настају током повећања величине кардиомиоцита. Наспрам тога, повећани волумен кардиомиоцита у физиолошкој хипертрофији је повезан са бољом регулацијом деполаризације и реполаризације, што може имати заштитни утицај против абнормалних електричних сигнализација у ремоделованом срцу. На пример, код кардиомиоцита мишева након 4 недеље тренинга пливања утврђена је повећана ефикасност калијумских канала и тиме излазак калијумових јона из ћелије (30).

1.1.6. Крв и васкулатура

Капацитет крви за транспорт кисеоника зависи од броја циркулишућих еритроцита и концентрације интрацелуларног хемоглобина и представља важну детерминанту перформанси вежбања и отпорности на замор. Спортисти обично имају анемију одређеног степена, вероватно због губитка оштећења еритроцита током хроничних интензивних тренинга. Ипак, и поред тога свеукупна маса еритроцита се повећава код спортиста, посебно оних који тренирају на великим висинама. Ово је делимично последица дозног зависног ефекта кисеоника на индуктибилне факторе хипоксије (HIF) који стимулишу проиводњу еритропротеина као и регулацијом рецептора али и транспорт гвожђа путем трансферина. Осим тога, више студија је такође показало да вежбање акутно убрзава процес хематопоезе (31, 32).

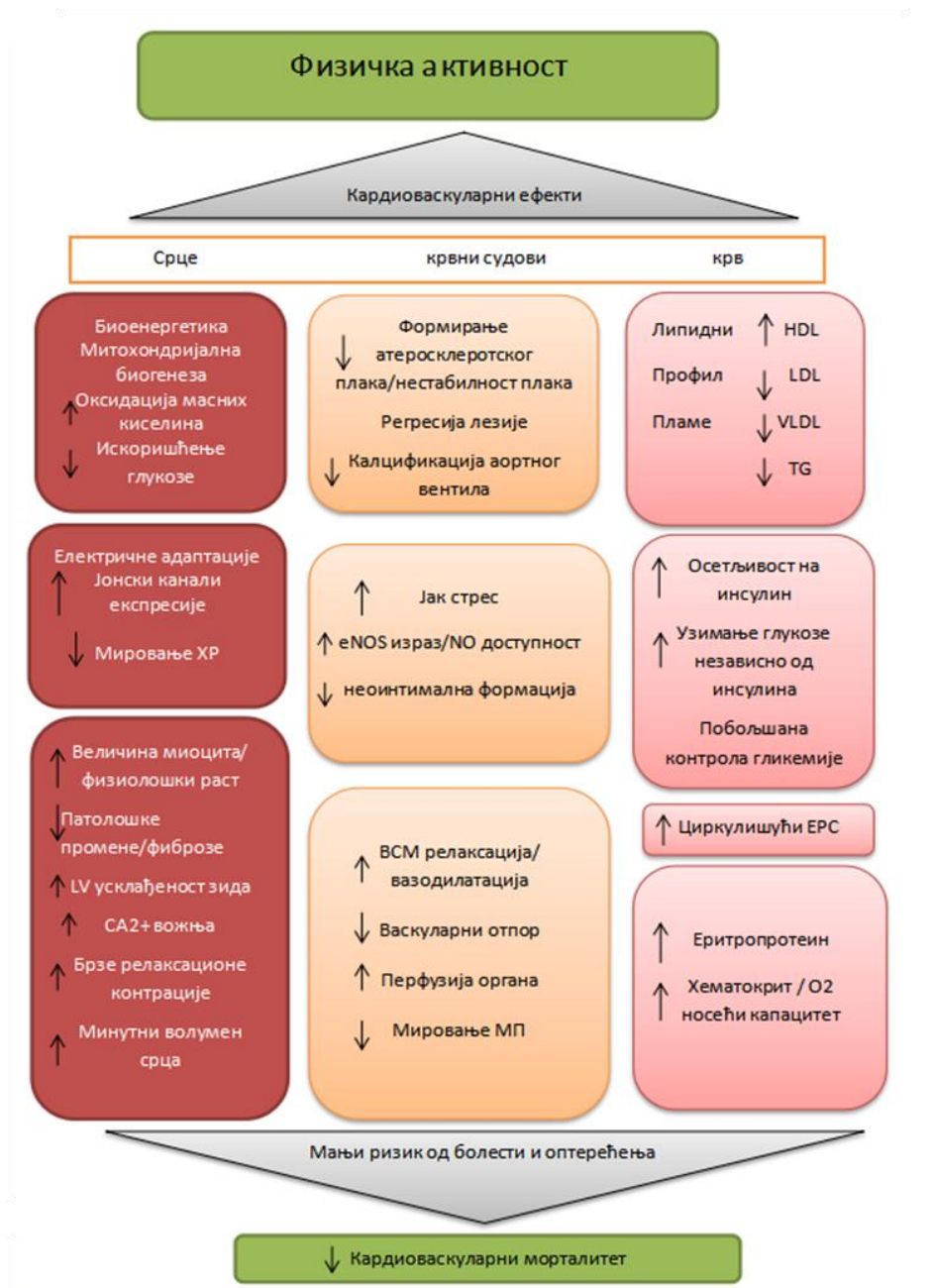
Интензивно вежбање је повезано са ослобађањем инфламаторних медијатора који су активни у коштаном сржи као што су кортизол, интерлеукин 6 (IL-6), фактор некрозе тумора алфа (TNF- α) и стимулишући фактор гранулоцитне колоније. Једна

студија је открила да је број CD34⁺ хематопоеетских ћелија био 3 до 4 пута већи код тркача него код нетркача што може представљати адаптивни одговор на вежбање који олакшава репарацију мишића. Додатно, студије су показале да је интензивно вежбање повезано са ослобађањем CD34⁺/KDR⁺ ендотелних прогениторних ћелија из коштане сржи и да је овај ефекат појачан код појединаца са повишеним LDL/HDL и LDL/ТС профилима. Такође, значајно повећање концентрације еритропоетина, уз повећани ниво VEGF и HIF-1 пронађен је неколико сати након тренинга различитих интензитета код жена (33). Ипак, физиолошки значај ових одговора остаје нејасан, јер ефекти вежбања на ангиогенезу и одговор на репарацију мишићног ткива нису били системски проучавани.

Артеријска васкуларна мрежа такође трпи функционалну и структуралну адаптацију на вежбање. Током вежбања, услед ослобађања вазодилаторних медијатора (аденозина, лактата, калијума, водоника, угљен-диоксида, итд.) из активираних мишића, долази до вазодилатације малих артерија и прекапиларних артериола које снабдевају крвљу скелетне мишиће. Поновљена физичка активност доводи до адаптивног одговора у артериолама скелетних мишића који укључује повећану васкуларну густину у комбинацији са већим капацитетом вазодилатације, што за последицу има побољшану перфузију. Ово може бити делимично због прилагођавања ендотела на сложену интеракцију рекурентних варијација у хемодинамским стресовима и вазодилаторним стимулансима вежбања. Ендотелна синтеза NO је у великој мери увећана током мировања код особа које тренирају. Сличан адаптивни одговор на вежбање забележен је и у коронарној васкулатури која се мора ширити да би се задовољили повећани метаболички захтеви миокардијума. Студије како на људима тако и на животињама показују смањени миокардни проток крви током одмора након вежбања, што може утицати на смањење срчане потрошње кисеоника (35).

Међутим, велики број студија предлажу постојање синергизма више механизма да би се побољшала способност коронарне циркулације ради обезбеђивања већег снабдевања миокарда кисеоником током вежбања. Ово укључује структурне адаптације које се састоје од проширења густине интрамиокардних артериола и капилара као и појачаног формирања микроваскуларних колатерала.

Додатно, слично као и скелетни мишићи и артериоле, тако и коронарна артеријска мрежа постаје осетљивија на вазоактивне стимулусе преко више различитих механизма укључујући, али не ограничавајући се, на повећање ендотелне производње NO, измењене реакције на адренергичне стимулансе, или промене у метаболичкој регулацији васкуларног тонуса. Осим тога, неке студије сугеришу да се вазодилација супроставља артеријској дисфункцију код гојазних одраслих особа после периода вежбања (35), сугеришући већи допринос NO независних механизма, ради унапређења микроваскуларне ендотелне функције (Слика 1).



Слика 1. Преглед главних кардиоваскуларних ефеката вежбања

1.2. Тренинг умереног и тренинг високог интензитета

Физичка активност односно тренинг умереног до високог интензитета се обично препоручује у превентивне и терапијске сврхе различитих болести поготово болести кардиоваскуларног система (36). У том смислу, Светска здравствена организација (WHO) су препознале бенефите различитих типова тренинга у циљу побољшања кардиореспираторне кондиције и смањења ризика смртности и морбидности (37). Због свега наведеног јасно разумевање и разликовање умереног и тренинга високог интензитета је од суштинског значаја. Недавна студија која се бавила варијабалним интензитетима вежбања, јасно је указала да интензитет треба да буде индивидуализован са релативно специфичним границама, одржавајући прецизне метаболичке услове изнад којих се угрожава физиолошка хомеостаза (38). Да би се ово постигло у даљем тексту овог дела Увода интензитет вежбања ће се разматрати у контексту метаболичког одговора на интермитентна вежбања и вежбања константног интензитета.

Физичка активност се најчешће дефинише као било који телесни покрет произведен скелетним мишићима који резултирају енергетском потрошњом, док се вежбање дефинише као физичка активност која је планирана, структурирана и репетитивног је карактера у сврху одржавања или побољшања физичке активности (39).

Према најједноставнијем тумачењу, интензитет вежбања се односи на брзину метаболичке потражње енергије током вежбања. Интензитет вежбања може се изразити у апсолутном смислу (на пример удисање кисеоника у L/мин, откуцаји срца по минути, брзина кретања у m/sec, итд.) или релативном смислу (максимално удисање кисеоника, максимални откуцаји срца, итд). Међутим, мора се имати у виду да генетика, кондициони статус, коморбидности и други фактори заједно утичу на способност одржавања хомеостазе током акутних епизода вежбања и да ће се адаптације постићи само када је дошло до нарушавања ове хомеостазе у довољном степену (40).

Постоје два приступа која се користе у одређивању интензитета вежбања. Први је максимално стабилном стање лактата, а други је критична снага/критична брзина теста. Оба приступа дају интензитет који приближава максималну потрошњу кисеоника ($\dot{V}O_2\text{max}$) аеробном и лактатном/анаеробном прагу. До границе аеробног прага постоји интензитет вежбања кога прати стални пораст потрошње кисеоника који задовољава тренутну енергетску потрошњу. Када се пређе овај праг даљим повећањем интензитета вежбања енергија се неће више моћи обезбедити из аеробних извора те се добијање енергије усмерава на анаеробну гликолизу која доводи до акумулације лактата у крви – постигнут је анаеробни, лактатни праг (41).

Други приступ која се користи за процену интензитета вежбања је утврђивање критичне снаге или критичне брзине. Ова техника захтева вишеструко испитивање интензитетом изнад анаеробног прага. Постоји више недостатака ове методе а уз то уколико се не изврши тест верификације, физиолошки одговори на овом критичном интензитету нису познати (41).

Проблем повезан са именовањем граничних услова је да постоји мноштво начина којима су ови прагови описани и названи. На пример, Бишоп наводи шест различитих начина на које се може идентификовати праг лактата (42). Из тог разлога битно је обратити пажњу на то како се детектује праг у било ком датом истраживачком раду.

Примери физичке активности умереног интензитета (на пример брзи ход, плес и баштованство) и вежбања високог интензитета (на пример цогирање, брза вожња бицикла, брзо пливање, ходање уз брдо) су корисни у описивању интензитета вежбања. Многе спортске и здравствене организације су до сада пружиле дефиниције тренинга умереног и високог интензитета. Информације у Табели 1 су формиране на основу података и смерница Светске здравствене организације. За опис тренинга умереног и високог интензитета се користи метаболички еквивалент (МЕТ) у мировању (44). Енергетска потрошња се може изразити метаболичким еквивалентом (МЕТ) при чему вредност једног МЕТ-а одговара енергетској потрошњи у мировању (Табела 1). Сврставање у тренинг умереног или високог интензитета може бити засновано на основу распона фреквенце срца израженог у односу на индивидуалну максималну фреквенцу срца или проценат резерве срчане фреквенце. На основу овог критеријума умерно вежбање се одвија на 40-59% резерве срчане фреквенце или 64-76% максималне фреквенце срца, док се интензивно вежбање одвија на 60-84% резерве срчане фреквенце или 77-93% максималне фреквенце срца (45).

Табела 1. Методе које се користе за процену тренинга умереног или високог интензитета.

Умерени интензитет	Умерени интензитет (опис и/или дати примери)	Високи интензитет	Високи интензитет (опис и/или дати примери)
3 - 6 МЕТ Ходање 4-6,5km/сат 40-59 % резерве срчане фреквенце	Брзи ход, Плес Тенис Грабуљање дворишта Пливање	> 6 МЕТ Брзо ходање > 6,5km/сат 60 -84 % резерве срчане фреквенце	Цогирање, трчање, Ношење тешких предмета, Чишћење снега, Брзо пливање
64-76% максималне фреквенце срца		77-93% максималне фреквенце срца	

Не постоји јасна доња граница интензитета умереног вежбања, док је горња граница одређена аеробним прагом. Умерен интензитет вежбања се може одржати сатима. Са друге стране, аеробни и анаеробни прагови служе као доње и горње границе вежбања високог интензитета. Овај интензитет вежбања може трајати ограничено на 30-50 минута (46).

Недостатак поменутих доследности и јасноће дефинисања умереног и интензивног тренинга има неколико импликација. Прва импликација се односи на здравствене ефекте будући да они директно зависе од интензитета, а друга на крајње кориснике односно појединце који морају све ово да разумеју да би применили у пракси. Због овога је употреби више метода за објективну квантификацију интензитета вежбања. Срчана фреквенца пружа непосредне и објективне повратне информације о интензитету вежбања, али се ипак препоручује ергоспирометријско тестирање како би се омогућило прописивање одговарајућих распона срчане фреквенце који ће се подударати са доменом релативног интензитета појединца. Уколико ергоспирометријско тестирање није могуће, оцена ученог напора (перцепција напрезања) може бити корисна алтернативе у пракси. Напор одржавања датог интензитета вежбања подудара се са физиолошким променама које се јављају у циљу подстицања енергетске потражње. Перцепција напора се може прецизирати појединачно у размери коришћењем инкрементног теста, што може бити користан начин идентификације интензитета вежбања.

Алтернатива субјективној оцени ученог напора је тест разговора. Овај једноставан приступ се заснива на чињеници да појачана и убрзана вентилација отежава вођење разговора који се циљано иницира. Интензитет тренинга при овој вентилацији се сматра граничним, те је интензитет испод ове границе умерен а изнад ове границе висок. Када је разговор немогућ, интензитет вежбања је већи од високог (47).

1.3. Концепт исхемијско - реперфузионе повреде и феномен прекондиционарања срца

Подаци Светске здравствене организације показују да око 17 милиона људи широм света сваке године умире од кардиоваскуларних болести, при чему је исхемијска болест срца најчешћи узрок смрти у Европи (48). На ћелијском нивоу, најчешћи узрок исхемије миокарда је такозвана исхемијско/реперфузиона повреда (I/R) укључујући молекуларне, биохемијске, метаболичке, функционалне и морфолошке поремећаје кардиомиоцита која се дешава и током исхемије и током реперфузије. Ове промене могу водити и до изумирања ћелија (49).

Последњих деценија, лечење и терапија исхемијске болести срца су један од најзначајнијих задатака здравствених заједница широм света. Осим терапије, познато је да превенција могућег исхемијског догађаја може бити важан фактор у смањењу последица ове болести како у смислу тежине клиничке слике, тако и цене лечења (48-50). Стога, у циљу превенције и/или минимизације исхемијско реперфузионог оштећења, развијена је метода прекондиционарања миокарда. Прекондиционарање представља процедуру заштите и превенције миокарда од наступајућих исхемијских и реперфузионих оштећења, која се заснива на употреби фармаколошких и нефармаколошких средстава.

Упркос значајном напретку, примећено је да је фармаколошко прекондиционирање све више повезано са бројним нуспојавама што резултира финансијским оптерећењем како за здравствени систем тако и за појединца (51). Све ово је навело истраживаче и лекаре да пронађу нова решења за претходно поменута питања. Последњих година, развој нових нефармаколошких принципа прекондиционирања постао је један од водећих научних задатака у овој области истраживања. Од познатих нефармаколошких видова прекондиционирања, физичка активност се показала као потенцијално најефикаснија, са обећавајућим резултатима у овој области. Ова тврдња је потврђена бројним епидемиолошким студијама које указују на кардиопротективне ефекте редовног вежбања. Истраживањима је уочено је да је учесталост инфаркта миокарда мања код физички активних особа (52, 53).

Занимљиво је да позитивни ефекти прекондиционирања вежбањем нису ограничени само на период вежбања, будући да постоје докази да заштитни ефекти остају присутни и девет дана након вежбања (52). Међутим, неке студије које испитују ефекте вежбања на I/R, дале су двосмислене резултате, при чему једни истраживачи тврде да тренинг побољшава толеранцију миокарда на I/R (52), док други наводе да нема побољшања или чак доводе до смањења толеранције миокарда на I/R. Осим ових двосмислених резултата, намеће се питање којом врстом физичке активности или тренинга (аеробним или анаеробним) се постижу (нај)бољи резултати у прекондиционирању I/R (54).

Иако специфични заштитни механизми прекондиционирања вежбањем до сада нису идентификовани, претпоставља се да они укључују повећање ензимске антиоксидационе активности миокарда и успешнију неутрализацију реактивних врста кисеоника, посебно током периода реперфузије. У последње две деценије, дошло је до значајног повећања количине података у вези са кардиопротективним утицајем физичке активности, са великим бројем испитивања спроведених како на животињама тако и на људима (52-54). Међутим, међу свим закључцима намеће се један најучесталији а то је да су подаци из литературе недоследни, што оставља и даље много отворених питања.

Инфаркт миокарда се сматра иреверзибилним стањем, најчешће као крајњи исход продужене исхемије миокарда. Сама исхемија се дефинише slabим протоком крви кроз коронарне судове и узрокована је мноштвом разлога, који доводе до мањег пристизања крви у срце и на тај начин инсуфицијентне испоруке хранљивих материја кардиомиоцитима, што доводи до њихове некрозе (55). Штавише, иако је током протекле деценије постигнут значајан прогрес у лечењу исхемије миокарда, правремена реперфузија се и даље сматра једном од најбољих метода, ако не и најбољом, у спасавању ткива миокарда (56). Ипак, и реперфузија је потенцијално подједнако опасна као што су показала многа клиничка запажања и испитивања, те неопходна додатна кардиопротекција како би се смањила стопа смртности. С обзиром да се величина инфаркта сматра једним од доминантних фактора за предвиђање животног века код пацијената са инфарктом, многе кардиопротективне мере имају за циљ да ублаже величину поменуте повреде (56).

Ова класична парадигма кардиопротекције, која подразумева смањење величине инфаркта изазваног трајном коронарном оклузијом и реперфузијом примењујући неколико циклуса кратке коронарне оклузије и реперфузије, је водећа теорија у модерној кардиотерапији (57).

Упркос томе, постоји јаз између резултата значајног броја претклиничких студија у којима је ефикасно смањење величине инфаркта постигнуто било механичким или фармаколошким интервенцијама и њиховог превођења у клиничку корист код

пацијената са акутним инфарктом миокарда. Будући да у већини случајева није било могуће применити прекондиционирање код пацијената са акутним инфарктом миокарда, због временски непредвидивог догађаја и чињенице да је већина метода пружила релативно кратак период заштите, неки други приступи су сматрани погоднијим у смањењу штете изазване продуженом исхемијом (54-57).

У једној од студија аутори су показали да је величину инфаркта могуће смањити и исхемијским посткондиционирањем у скоро истој мери као и прекондиционирањем (56). Трећи метод кардиопротекције, који се у почетку сматрао могућим само у лабораторијским условима и који је у последње време постао популаран захваљујући својој примени у клиничкој пракси, је удаљено исхемијско прекондиционирање (57). Колико год да су се ове методе показале корисним, оне се и даље ослањају на изазивање исхемије/реперфузије, и даље узрокујући одређени степен повреде (58).

Истраживања спроведена последњих година пружила су важан увид о много различитих фактора који учествују у патогенези исхемијско/реперфузионе повреде. Нека од новијих открића показују да различити молекули попут рецептор-зависних оксидача или цитосолних посредника имају много већи утицај на процесе исхемије него што се раније мислило (59-61). То је довело до нових истраживачких пројеката фокусираних на проучавање ових молекула и њихове интеракције, отварајући пут новим могућим третманима исхемије. Због тога је неопходно боље разумевање трансдукције сигнала да би се постигла кардиопротекција без изазивања било каквог облика повреде ткива. Студије су известиле о преко 100 различитих сигналних молекула и механизма који учествују у кондиционирању (59-64).

Већина студија претпоставља постојање молекула оксидача који се ослобађа приликом прекондиционирања и који делује као стимуланс за активирање кардиопротективних механизма током дуготрајне исхемије. Специфични оксидач још увек није идентификован, али у процесу испитивања су кардиопротективни ефекти бројних физичких и хемијских стимуланса (61). У моделима кондиционирања је показано да чак и блага хипотермија штити ћелије срца током исхемије, успоравањем њиховог метаболизма и активирањем екстрацелуларно регулисаних киназа, истовремено регулишући протеине топлотног шока (62). Неки ендогено ослобођени молекули као што су јони калцијума или реактивне врсте кисеоника (ROS) и реактивне врсте азота такође имају улогу у кардиопротекцији. Реактивне врсте кисеоника, посебно, имају амбивалентну улогу - њихов вишак пропагира неповратна оштећења, док у малим концентрацијама штите цитосолне киназе, повећавајући заштиту. Такође, реактивне врсте азота показују особине попут ROS-а у зависности од дозе (65, 66).

Унутарћелијско преоптерећење калцијумом, брза нормализација рН вредности након реперфузије и оксидациони стрес доводе до пролазног отварања пора митохондријалне пермеабилности (MPTP), што узрокује смрт ћелија. Рецептори активирани пролифератором (PPARs) из породице нуклеарних рецептора који делују као фактори транскрипције изазвани лигандом, такође показују плејотропна кардиопротективна својства.

Осим тога што су примарни транскрипциони регулатори метаболизма липида миокарда и енергетске хомеостазе, PPARs поседују и антиоксидациона и антиинфламаторна својства. Активација PPARb/d потискује генерисање ROS-а у срчаним миоцитима код одраслих пацова подвргнутих оксидационом стресу што имплицира појачану регулацију каталазе. Уклањање срчаног PPARb/d код мишева довело је до смањења срчане хипотрофије и конгестивне срчане инсуфицијенције. Уз то се показало да је PPARb/d неопходан за физиолошко функционисање срца у смислу одржања капацитета митохондрија и оксидационог метаболизма (67).

Разградња ћелија путем програмиране ћелијске смрти - као што су апоптоза, аутофагија, некроптоза и пироптоза се јавља у контролисаним физиолошким или у неким патолошким стањима. На пример, приликом I/R повреде, долази до повећања ROS-а и концентрације калцијума, што доводи до смрти великог броја ћелија миокарда и ослобађања штетних молекула као што су DAMP (молекули повезани са оштећењем, индикатори ћелијског оштећења), који затим активирају инфламаторне ћелије са циљем уклањања ћелијских остатака, узрокујући још веће изумирање кардиомиоцита. DAMP ослобађају цитосолне мултипротеинске олигомере из ћелија домаћина који затим стимулишу макрофаге да луче проинфламаторне цитокине IL-1 β и IL-18 заједно са гасдермином D (GSDMD), који индукује програмирану пироптозу - тип ћелијске смрти (68).

Током реперфузије миокарда оксидација масних киселина (FA) се брзо наставља јер је значајан ћелијски извор енергије док се оксидација глукозе смањује глукозе, будући да је овај штетан у опоравку и омета постисхемични функционални опоравак. Осим тога, *in vitro* студија је показала да стимулација метаболизма глукозе инхибира апоптозу у кардиомиоцитима дијабетичних пацова. Међутим, остаје непознато да ли се током реперфузије унос глукозе мења и доприноси исхемијском предкондиционарању односно кардиопротекцији (69).

У друге механизме који доприносе некрози кардиомиоцита током исхемије убрајају се блокада функције јонких пумпи (као резултат смањне концентрације расположивог АТФ-а), ацидоза и преоптерећење калцијумом.

Током ране реперфузије, када се процес формирања АТФ-а поново успостави, контракција миофибрила је прекомерна и некоординисана као одговор на повећање концентрације цитосолног калцијума из саркоплазматорног ретикулума. Јони калцијума нису показали много утицаја током прекондиционарања, тако да имају утицаја само приликом активације аденозина и РКС (протеинске киназе C) (70). Многи неуротрансимтери и хормони, као на пример ацетилхолин, ангиотензин, катехоламини, могу покренути кардиопротективне механизме активирањем својих рецептора, од којих само α -адренорецептори директно учествују у прекондиционарању формирањем аденозина и активацијом РКС (71).

Недавна истраживања су доказала да се током исхемијских повреда кардиомиоцитних ћелија јављају многи облици регулисане ћелијске смрти као што су апоптоза, некроптоза, аутофагија и фероптоза. Апоптоза кардиомиоцита се јавља или као одговор на оштећење ДНК и повећање нивоа ROS-а и цитосолног калцијума или због активације специјалних рецептора смрти на сарколеми. Овај тип програмиране ћелијске смрти захтева енергију и укључује ослобађање цитохрома C из митохондија и активације каспаза што доводи до фрагментације ДНК.

Са друге стране, активацијом рецептора за фактор некрозе тумора алфа, јавља се некроптоза, што доводи до формирања некрозома и уз помоћ различитих киназа, изазива се формирање пора у сарколеми. Наредна врста регулисане ћелијске смрти која се дешава током или после исхемије је фероптоза. Карактерише је пероксидација липида и дезинтеграција ћелијске мембране (72-75). Обично се јавља током неравнотеже про - и антиоксидационих молекула и повезана је са три различита, али међусобно повезана пута (76). Пут који је регулисан транспортером индукује фероптозу инхибирањем мембранског транспортера за аминокиселине чиме се обезбеђују субстрати за синтезу редукованог глутатиона (GSH). Пошто је GSH обавезни кофактор за правилно функционисање глутатион пероксидазе (GPX) – ензима који претвара токсични липидни хидропероксид у мење токсични алкохол, може се сматрати и делом другог ензимски регулисаног пута (75).

Други ензими који садрже гвожђе, као што су ALOX (арахидонат липооксигенеза) или група ензима NADPH оксидазе (NOX), такође играју кључну улогу у покретању и пропагирању пероксидације масних киселина. Трећи пут пероксидације липида укључује оксидацију и поли- и монозасићених масних киселина и њихових метаболита. Наведена оксидација се дешава када вишак реактивних кисеоничних врста, обично из митохондрија или NADPH оксидазе оштећује мембранске липиде, изазивајући липидну пероксидацију (76). Фактори раста, као што су инсулински фактор раста 1, фибробластични фактор раста 1, и фибробластични фактор раста 2, својим дејством могу ублажити исхемијска оштећења.

Цитокини/хемокини имају такође вишеструку улогу у исхемијском пре-ипосткондиционарању (77). Фактор некрозе тумора α (TNF α) активно учествује у овијању процеса пре- и посткондиционарања и при егзогену примени смањује исхемијско оштећење. Цео процес укључује активирање TNF рецептора 2 и митохондријске K_{ATP} канале. Осим TNF α и интерлеукин 6 и 10 праћени накнадном сингнализацијом су неопходни прекондиционарању и удаљеном исхемијском прекондиционарању (78-80).

Пренос кардиопротективних сигнала са периферних органа (мозак, мезентеријум, бубрези, скелетни мишићи, кожа) до срца је резултат сложене неурохуморалне интеракције. Исхемија/реперфузија, траума или чак индукована активација сензорних влакана у периферним органима, ослобађа до сада неидентификовани хуморални фактор кроз централни нервни систем (79). У неким студијама, активација аутономног нервног система сматрала се обавезним за смањење исхемијског оштећења миокарда (80). Штавише, пренос хуморалних заштитних фактора добијених након више циклуса удаљеног прекондиционарања са једне особе на другу се показала могућом и корисном опцијом (81).

Осим смрти кардиомиоцита, сваки исхемијско/реперфузиони процес праћен је у великој мери и иреверзибилним повредама микроваскуларних ћелија. Најтежа форма ових оштећења је уништавање капилара као резултат отежаног протока (82). Коронарна артеросклероза са ерозијом или руптуром плака је иницијатор инфаркта миокарда који такође утиче на коронарну микроциркулацију. Остаци избачени из руптурираног епикардијалног плака доспевају у крвоток, изазивајући микроемболизацију. Руптура плака или ерозија је обично праћена ослобађањем и проинфламаторних фактора, вазоконстриктора и протромботичких фактора. Исхемијско/реперфузиони догађај такође може изазвати оштећење вазомоције услед дисфункције глатких мишићних ћелија крвних судова (83-85).

1.4. Кардиопротективни ефекти вежбања у исхемијско-реперфузионој повреди

Кардиоваскуларне болести као што су исхемијска болест срца или коронарна артеријска болест су и даље један од главних узрока смрти широм света. Комбинација генетских карактеристика са годинама старости и другим факторима као што су дислипидемија, артеросклероза и хипертензија се сматрају факторима ризика за развој кардиоваскуларних болести. Штавише, на озбиљност ових болести значајно утиче и висок калоријски унос и недостатак физичке активности (85).

Бројне студије објављене у последњој деценији такође иду у прилог тврдњи да редовно вежбање представља ефикасан и дугорочан кардиопротективни механизам. Остале студије такође расправљају о чињеници да редовно вежбање значајно смањује кардиоваскуларне факторе ризика као што су хипертензија, гојазност, дијабетес мелитус и друге (86). Иако тачни механизми нису у потпуности познати, неке студије

су разјасниле да укупна потрошња енергије током вежбања и интензитет вежбања имају значајну улогу у спречавању инфаркта миокарда. У том смислу, недавно су осмишљени и тестирани бројни типови тренажних протокола ради смањења кардиоваскуларног ризика са обећавајућим резултатима (86, 87).

Тако је показано да тренинг високог интензитета пре исхемијских догађаја може спречити смртоносну повреду миокарда, чиме су пружени докази који подржавају концепт прекондиционарање срца вежбањем. Други ефекат вежбања је индукција аутофагија кардиомиоцита. Аутофагија је главни ћелијски процес са сврхом одржавања енергетске хомеостазе. Неки радови су сугерисали да аутофагија може не само да се индукује већ и стимулише путем контролисаног прекондиционарања, различитим врстама краткотрајних и дуготрајних вежби које се периодично понављају. Овакви типови тренинга могу бити покретачи унутарћелијског стреса који доводи до аутофагије кардиомиоцита (88-90).

Са друге стране, доказана је значајна повезаност између васкуларне функције и кардиореспираторне спремности (90). Очувана васкуларна функција је неопходна за заустављање прогресије атеросклеротске каскаде, чиме се изразито смањује подложност свим врстама кардиоваскуларних догађаја, укључујући инфаркт миокарда и мождани удар. Добро је позната чињеница да су и интервални тренинг високог интензитета (НПТ) и континуирани тренинг умереног интензитета (МІСТ) успешни у побољшавању кардиореспираторне кондиције. Многе студије покушавају компарирају кардиоваскуларне ефекте ових типова тренинга, са циљем да се идентификује који је ефикаснији односно да се утврде њихови појединачни и комбиновани утицаји (91).

Студије које су проучавале ове типове тренажних протокола током дужег временског периода дошла су до резултата који показују да НПТ може бити ефикаснији у смањењу фактора ризика од кардиоваскуларних болести у поређењу са МІСТ-ом. Чак су и вредности дијастолног и систолног крвног притиска биле значајно ниже после НПТ-а него после МІСТ-а. Такође је уочено да у поређењу са МІСТ-ом, НПТ изразито побољшава дилатацију брахијалних крвних судова (92, 93).

У истраживањима спроведеним на пацијентима са срчаном инсуфицијенцијом се може видети да НПТ јаче стимулише антиоксидациони систем у поређењу са МІСТ-ом. Овоме у прилог иде и знатно већа биорасположивост азот монооксида након НПТ него МІСТ протокола (94).

Осим тога, код пацијената са дијабетесом типа 2 подвргнутих НПТ протоколу у трајању од дванаест недеља, уочено је много ефикасније повећање осетљивости на инсулин у компарацији са МІСТ-ом. Оба протокола су довела до значајног смањења телесних масти без статистичких разлика између њих (95-98).

Ипак, иако је доказано да редовна физичка активност смањује морбидитет и морталитет узоркован кардиоваскуларним болестима, оптимално трајање, учесталост и интензитет вежбања остају нејасни (99). Молекуларне механизме везане за кардиопротективне ефекте вежбања можемо најпрецизније размотрити у студијама на анималним моделима. У недавно објављеном истраживању представљено је да МІСТ може бити користан у редукцији исхемијско/реперфузионог оштећења, а истовремено има и дугорочне заштитне кардиоваскуларне ефекте. Такође је забележено евидентно смањење величине инфарктног поља након МІСТ-а.

Будући да краткотрајни тренинг може опонашати исхемијско прекондиционарање, намеће се и нов начин истраживања механизма вежбања који подстичу кардиопротекцију. Студија спроведена на пацовима показала је да НПТ подстиче хипертрофију кардиомиоцита и интерстицијалну фиброзу, модулирајући сигнале апоптозе у миокарду здравог пацова. Такође се комбиновањем НПТ-а са

повременим гладовањем, смањује проапоптотичка и повећава антиапоптотичка сигнализација уз смањење потенцијалне фиброзе и хипертрофије узроковане НПТ протоколима (100, 101).

Истраживања на здравим глодарима су доказала да НПТ може повећати дужину, ширину и запремину кардиомиоцита као и масу леве и десне коморе уз очување функције леве коморе. Експерименталне студије исхемијско/реперфузионе повреде срца које су користиле НПТ протоколе на пацовима, пронашле су смањење вентрикуларне хипертрофије и фиброзе уз побољшање срчане функције и смањење апоптозе ћелија миокарда (102, 103). Друге студије користећи моделе хипертензије, наводе да би НПТ могао повећати масу леве коморе без значајне фиброзе, што сугерише да ефекти НПТ-а на миокард могу дати различите резултате у зависности од експерименталног модела који се користи. У истраживањима која су испитивала ефекте вежбања на активност различитих гликолитичких ензима, уочено је да је њихов капацитет, независно од типа тренажног протокола, благо повећан или непромењен (104, 105).

Са друге стране, стопа оксидације палмитинске киселине је при вежбању изразито већа у срцу пре и после исхемије (106). Познато је да су високи нивои масних киселина у плазми примећени након акутне исхемије миокарда штетни за срце током реперфузије. Повећан ниво оксидације масних киселина у срцима пацова је повезан са већом стопом преживљавања након исхемије, што подржава идеју да повећана оксидација масних киселина штити срце од токсичних метаболичких ефеката масних киселина након исхемије (107).

Сумарно посматрано, бројне студије објављене у последњој деценији, подржавају тврдњу да је редовна физичка активност ефикасан и кардиопротективни маневар. Осим тога, доказано је да редовно вежбање редукује значајан број кардиоваскуларних фактора ризика као што су хипертензија, гојазност, дијабетес мелитус и многи други. Такође је све више података да тренинзи различитих интензитета (НПТ и МІСТ) могу бити обећавајуће нефармаколошко средство прекондиционирања односно заштите миокарда од исхемијско/реперфузионог оштећења.

Остаје мање познато који је од ова два протокола ефикаснији у истим експерименталним условима и да ли се механизми њихових ефеката одвијају посредством промена у редокс балансу. Ова питања односно хипотезе су биле једне од водећих смерница за дизајнирање нашег истраживања.

Као што је раније поменуто, бројне студије су пронашле да редовно вежбање изазива аутофагију. Претпоставља се да је прекондиционирање вежбањем повезано са аутофагијом у кардиомиоцитима резултат повремених циклуса исхемије и хипоксије односно сличности са исхемијским прекондиционирањем (108). Аутофагија као ћелијски процес одржава енергетску хомеостазу и на тај начин делује као заштитни механизам током периода енергетске инсуфицијенције као што је исхемија (108). Аутофагија може бити изазвана у исхемијском или хипоксичном срчаном ткиву током и услед различитих стресних стања. Прекондиционирање вежбањем, које се састоји од краткотрајних и дуготрајних повремених понављања неких вежби, симулирањем исхемијског прекондиционирања могу смањити оштећења миокарда изазвана током исхемијско/реперфузионе повреде (109).

Вежбе високог интензитета могу представљати ризик за здравље миокарда, јер неизбежно резултирају неравнотежом између повећане потрошње и недовољног уноса кисеоника. Понављање краткорочних, повремених вежби могло би да побољша стопу адаптације кардиомиоцита и њихову толеранцију на стрес, успостављањем јаче заштите

од прекомерне исхемије – хипоксије (110). Исхемијско прекондиционирање, такође познато као интермитентна исхемија/реперфузија (I/R) може резултирати повећаном кардиопротекцијом, чиме се ублажавају накнадне повреде или инфаркт налик исхемији-хипоксији (109, 110). Прекондиционирање вежбањем због описане сличности са исхемијским прекондиционирањем може ублажити морфолошка и функционална оштећења у раној и касној кардиопротекцији. Релативно јасна корелација између аутофагије и исхемије/хипоксије изазване вежбањем је доказана у бројним студијама. Поређења ради, исхемија/хипоксија изавана вежбањем високог интензитета и изавана прекондиционирањем резултира индукцијом аутофагије, при чему се аутофагија изавана вежбањем високог интензитета показала као мање ефикасна (111).

Једна од последица акутног инфаркта миокарда (АМИ) уз исхемију, је повећање производње реактивних врста кисеоника што резултира у настанку оксидационог стреса (112). Губитак кардиомиоцита накнадно узрокује оштећење функције срца. Ћелијска метаболичка хомеостаза се одржава у физиолошким условима балансирањем производње реактивних кисеоничних врста и активношћу антиоксидационе заштите (113). Пре исхемије, поремећај у наведеној равнотежи доприноси развоју коронарне артеријске болести. Стога се претпоставља да физичка активност може имати заштитни ефекат на исхемијска стања јачањем антиоксидационих система ткива (114).

Показало се да редовно, аеробно вежбање може побољшати метаболичку активност мишића, њихову митохондријалну функцију, производњу АТФ-а, а тиме и производњу реактивних врста кисеоника. Због тога, активирањем неколико различитих ензимских антиоксиданаса (супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GPx) и неензимских антиоксиданаса (глутатион и витамин Е) може да се постигне убразана и ефикаснија адаптација мишића на појачану производњу слободних радикала (115).

С обзиром на улогу реактивних кисеоничних врста у губитку функције срца изазване акутним инфарктом миокарда, превентивна физичка активност може пружити кардиопротективни ефекат путем стимулације антиоксидационих заштитних одговора (116). Благотворни ефекти аеробног тренинга који се изводи након АМИ се огледају у опоравку срчане функције (116). Експерименталне студије доказале су такође позитиван ефекат аеробног тренинга приликом инфаркта миокарда, у смислу ресторације вентрикулске функције и редуције величине инфаркта (117).

Међутим, нема конкретних доказа о антиоксидационим ефектима у миокарду као заштитним факторима подстакуним физичким вежбањем пре него што дође до појаве АМИ (118). Слично исхемијском прекондиционирању, показало се да вежбање високог интензитета смањује величину инфаркта миокарда (119). Нека истраживања су нотирала да вежбање аеробног типа има бенефитна дејства на срчани мишић кроз хипертрофију пожељног степена, ангиогенезу и побољшану контрактилност. Осим тога, особе које редовно вежбају могу бити изложени честој (спортској) брадикардији услед аутономне модулације и превласти парасимпатичког нервнег система. На овај начин се омогућава продужење дијастолног периода и повећана перфузија миокарда, при максималним оптерећењима.

Иако је непобитна чињеница да тренинзи и високог и умерног интензитета могу имати кардиопротективна својства, у литератури се још увек не може пронаћи довољно студија које су компарирале њихове утицаје, пре свега користећи анималне моделе исхемије/реперфузије миокарда. Због тога је у литератури још увек присутна полемика између интензитета вежбања и нивоа кардиопротекције. На основу резултата ранијих студија које су упоређивале вежбање умереног и високог интензитета на

глодарима, преовладава мишљење да је кардиопротекција оба типа тренажних протокола готово еквивалентна (120).

Сумарно анализирано, доказано је да физичка активност остварује позитивне ефекте у исхемијско/реперфузионој повреди срца у смислу редуције морфолошких и функционалних оштећења или стимулације бржег и ефикаснијег процеса опоравка. Такође, бројне студије обављене у последњој деценији подржавају став да је редовно физичко вежбање ефикасан и дугорочни кардиопротективни маневар.

Иако тачни механизми ове кардиопротекције још увек нису у потпуности познати, неке студије су појасниле да укупна енергетска потрошња током вежбања тј. интензитет вежбања играју важну улогу у превенцији и модулацији инфаркта миокарда. Према доступним подацима и НПТ и МІСТ протоколи обезбеђују сличан степен кардиопротекције (Табела 2). Док праг оптималног интензитета још није утврђен, за сада се чини да је већи интензитет вежбања кориснији у догорочним режимима (77). Како би се обезбедила адекватна translација обећавајућих експерименталних података у клиничку праксу, будућа комплекснија истраживања би требало да имају карактер макропројеката који се састоје од претклиничких и клиничких испитивања.

Табела 2. Сумарни приказ кардиопротективних ефеката тренажних протокола различитих интензитета

Аутор	Година издања	Модел студија	Врста вежбања	Механизам
Deutsch E et al	1990.	хумани	НПТ/МІСТ	Васкуларна адаптација
Liu Y et al.	1995.	анимални	НПТ/МІСТ	Активација антиоксидационих ензима
Jenkins DP et al.	1997.	хумани	НПТ/МІСТ	Смањење фактора ризика
Thuny F et al.	2012.	хумани	НПТ/МІСТ	Адаптација кардиоваскуларног система
Buscemi S et al	2013.	хумани	НПТ/МІСТ	Активација антиоксидационих ензима
Weston KS et al.	2014.	хумани	НПТ	Метаболичка и миокардна адаптација
Mitranun W et al	2014.	хумани	НПТ/МІСТ	Адаптација кардиоваскуларног система
Vujic A et al.	2018.	анимални	НПТ/МІСТ	Модулација сигнализације; Срчана адаптација
Rossello X et al.	2018.	хумани	НПТ/МІСТ	Аутофагија
Moller AB et al.	2019.	хумани	НПТ/МІСТ	Адаптација кардиоваскуларног система
Papathodorou I et al.	2021.	анимални	НПТ/МІСТ	Активација антиоксидационих ензима

II

ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

2.1 Циљеви истраживања

Главни циљ

Главни циљ ове студије је био да испита утицај различитих типова тренажних процеса (трчања и пливања) као видова прекондиционирања на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова.

Специфични циљеви

1. У оквиру поменутих типова тренажних процеса (трчања и пливања) испитати утицај како аеробне тако и анаеробне врсте ових тренинга у превенцији функционалних оштећења изолованог срца пацова на моделу исхемије/реперфузије.
2. Испитати утицај различитих типова тренажних процеса (трчања и пливања) и њихових различитих врста (аеробни и анаеробни тренинг) на оксидациони стрес срца подвргнутог исхемијско/реперфузионом оштећењу.
3. Испитати утицај различитих типова тренажних процеса (трчања и пливања) и њихових различитих врста (аеробни и анаеробни тренинг) на системски оксидациони статус пацова са исхемијско/реперфузионом повредом срца.
4. Испитати утицај различитих типова тренажних процеса (трчања и пливања) и њихових различитих врста (аеробни и анаеробни тренинг) на патохистолошке промене срца пацова са исхемијско/реперфузионом повредом.
5. Утврдити разлике у оствареним ефектима између поменутих врсти тренажних процеса (трчања и пливања) као и њихових различитих врста (аеробни и анаеробни тренинг)
6. Утврдити корелацију свих добијених функционалних, биохемијских и патохистолошких промена.

2.2 Хипотезе истраживања

Главна хипотеза

Очекује се да различити типови тренажних процеса (трчања и пливања) и њихове врсте (аеробни и анаеробни тренинг) могу да ублаже морфолошке, функционалне и биохемијске поремећаје који прате исхемијско/реперфузионо оштећење срца пацова.

Специфичне хипотезе

1. Очекује се да различити типови тренажних процеса (трчања и пливања) и њихове врсте (аеробни и анаеробни тренинг) могу да остваре позитиван утицај у превенцији односно смањењу функционалних оштећења срца након исхемије.
2. Очекује се да различити типови тренажних процеса (трчања и пливања) и њихове врсте (аеробни и анаеробни тренинг) могу да изазову промене у динамици ослобађања биомаркера оксидационог стреса пореклом из срца подвргнутом исхемијско/реперфузионом оштећењу.
3. Очекује се да различити типови тренажних процеса (трчања и пливања) и њихове врсте (аеробни и анаеробни тренинг) могу да изазову промене системског оксидационог статуса пацова са исхемијско/реперфузионом повредом срца.
4. Очекује се да различити типови тренажних процеса (трчања и пливања) и њихове врсте (аеробни и анаеробни тренинг) могу да буду повезани са позитивним патохистолошким променама срца пацова са исхемијско/реперфузионом повредом.
5. Претпостављамо да ће се у зависности од типа и врсте тренинга или њихове удружене примене и добијени ефекти разликовати.
6. Очекује се да постоји корелација између бар неких од мерених функционалних, биохемијских и патохистолошких варијабли.

III

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Студија припада експерименталним истраживањима на материјалу анималног порекла *in vivo* и *ex vivo*. Све експериментални поступци су спроведени у Центру за претклиничка и функционална истраживања и Центру изузетних вредности за изучавање редокс равнотеже у кардиоваскуларним и метаболичким поремећајима Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

3.2. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Истраживање је обухватило 40 пацова (*Wistar albino* сој, телесне масе 200 ± 20 g) мушког пола. Старост пацова је износила шест недеља на почетку експерименталног протокола. Животиње су били чуване у строго контролисаним условима (температура $22 \pm 1^\circ\text{C}$, циклус светлост:тама 12:12 часова), док су вода и храна били доступни у довољној количини да би могле да се користе према потреби (*ad libitum*).

Све експерименталне процедуре су спроведене у складу са прописаним актима (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC*) и принципима етике. Осим тога, студија је пре отпочињања одобрена од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (01-10540/3).

3.3. УЗОРКОВАЊЕ

Животиње су биле разврстане у једну контролну и четири експерименталне групе (по 8 животиња у свакој групи).

1. Прва група – седентарни пацови којима су били подвргнути исхемијско реперфузионој повреди изолованог срца - И / Р (контролна, И / Р група)
2. Друга група – пацови који су подвргнути тренажном процесу пливања аеробног типа којима је након тога изазвана И / Р (аеробно пливање + И / Р)
3. Трећа група – пацови који су подвргнути тренажном процесу пливања анаеробног типа којима је након тога изазвана И / Р (анаеробно пливање + И / Р)
4. Четврта група – пацови који су подвргнути тренажном процесу трчања аеробног типа којима је након тога изазвана И / Р (аеробно трчање + И / Р)
5. Пета група – пацови који су подвргнути тренажном процесу трчања анаеробног типа којима је након тога изазвана И / Р (анаеробно трчање + И / Р)

Тренажни протокол тиша пливања (аеробни и анаеробни тренинг пливања)

Пливање се одвијало у стакленом базену за експерименталне животиње чије су димензије 80 x 60 x 100cm. Помоћу електричног грејача, температура воде у базену је подешена на 37 С°. У свом саставу, базен има уграђену пумпу која константно прави таласе, и на тај начин пацовима се онемогућава плутање током тренинга. Током пливања животиње су биле непрестано надзиране (121, 122 8, 9). Тренинг пливања је почињао сваког дана у исто време од 09:00 часова у циљу оптимизације диуралног ритма.

Тренажни протокол аеробног пливања

Пацови из одговарајућих група су 5 дана у недељи били подвргнути тренингу пливања (током викенда су одмарали). Протокол пливања је подразумевао период адаптације (20 минута првог дана) да би се трајање пливања постепено повећавало за 10 минута сваког дана док се не достигне трајање од 60 минута (петог дана). Целокупан протокол пливања је трајао 9 недеља и задовољавао критеријуме аеробног тренинга издржљивости умереног интензитета, (животиње су пливале без додатног терета), што одговара интензитету физичке активности испод анаеробног прага код пацова (121, 122).

Тренажни протокол анаеробног пливања

Како би се са сигурношћу постигао тренажни протокол у анаеробној зони односно преко лактатног прага примењен је следећи протокол (122, 123). Пацови су најпре током прве две недеље пливали 60 минута без оптерећења 5 дана недељно како би се адаптирали на водену средину. Потом би у 3. недељи пливали уз оптерећење од 6,5% њихове телесне масе у трајању од 15 минута (период прилагођавања на терет), док би од 4. до 9. недеље у наредних 4 недеље пливали уз исто оптерећење у трајању од 60 минута. На тај начин целокупан протокол је трајао 8 недеља. Оптерећење се састојало од оловног тега одговарајуће тежине (6,5% телесне масе) смештеног у врећицу која је преко гумене траке везана за грудни кош животиње (122, 123).

У циљу процене и потврде аеробног или анаеробног типа пливања животињама из обе групе су се на крају сваке недеље одређивали лактати помоћу комерцијалног лактометара пункцијом репне вене (122, 123). Контролна група животиња која није пливала је потапана у воду исте температуре (током 1 минута) у истом периоду трајања протокола како би се искључио фактор стреса изазван пливањем експерименталних животиња.

Тренажни протокол тиша трчања (аеробни и анаеробни тренинг трчања)

Трчање као тип тренажног протокола се спроводио на траци за трчање специјално конструисаној за мале лабораторијске животиње која поседује четири траке за трчање. Током трчања животиње су биле континуирано надзиране (124), док је трчање почињало сваког дана у исто време од 09:00 часова у циљу оптимизације диуралног ритма.

Без обзира на модалитет трчања, прве недеље су сви пацови били подвргнути адаптацији на трчање која је обухватала трчање брзином од 8m/min 30 минута, једном дневно, пет дана у недељи (викедном су животиње одмарале).

Тренажни протокол аеробног трчања (трчање умереног интензитета)

Након периода адаптације пацови који су били подвргнути трчању умереног интензитета су наредних пет недеља трчали 60 минута дневно при чему се постепено повећавала брзина трчања (10-13m/min) да би последње недеље пацови трчали брзином од 15m/min (124). Укупно трајање овог протокола са периодом адаптације је износило 6 недеља.

Протокол интервалног тренинга високог интензитета (интервално трчање високог интензитета)

Након периода адаптације пацови који су били подвргнути интервалном трчању високог интензитета су од друге недеље трчали интензитетом од 45 m/min током 30 секунди, при чему се након одмора од 3 минута овај поступак понављао у још четири циклуса. Током наредне три недеље се постепено повећавала и брзина, али и дужина трајања трчања, да би последње недеље пацови трчали брзином од 55 m/min у трајању од 90 секунди у пет циклуса (124). Укупно трајање овог протокола са периодом адаптације износио је 6 недеља.

У циљу процене и потврде аеробног или анаеробног типа трчања животињама из обе групе су се након сваке сесије трчања (бар три пута недељно) мерили лактати помоћу комерцијалног лактометара пункцијом репне вене (122, 124).

Ex vivo протокол на изолованом срцу

Након хроничних третмана прекондиционарања различитим типовима тренажних протокола животиње су се жртвовале, а изолована срца су била перфундована методом ретроградне перфузије по *Langendorff*-у (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary*) при константном коронарном перфузионом притиску од 70 cmH₂O. Након стабилизације, срца су била подвргнута глобалној исхемији у трајању од 20 минута, а потом и реперфузији у трајању од 30 минута.

3.4. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

Кардиодинамски (функционални) параметри

Након успостављања стабилног срчаног рада, уклањањем леве преткоморе и прокидањем митралне валвуле омогућило се убацивање сензора (*transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) у леву комору ради директног и континуираног праћења параметара функције леве коморе:

- а) *dp/dt max* - максимална стопа промене притиска у левој комори,
- б) *dp/dt min* - минимална стопа промене притиска у левој комори,
- в) *SLVP* - систолни притисак леве коморе,
- г) *DLVP* - дијастолни притисак леве коморе и
- ђ) *HR* - срчана фреквенца.

Вредности коронарног протока су се одређивале флоуметријском методом. Коронарни венски ефлуент је био прикупљан у следећим тачкама експеримента: у тачки стабилизације, у првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије. У наведеним интервалима су бележени и сви претходно наведени кардиодинамски параметри.

Биохемијске анализе биомаркера срчаног оксидационог статуса

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента, спектрофотометријским методама су се одређивали следећи биомаркери оксидационог стреса:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS,
2. азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-),
3. супероксид анјон радикал (O_2^-),
4. водоник пероксид (H_2O_2).

Биохемијске анализе биомаркера системског оксидационог статуса

За ове потребе се приликом жртвовања узимала венска крв из које су се одређивале вредности параметара системског оксидационог статуса. Након центрифугирања, из плазме су се одређивале вредности про-оксидационих маркера:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS,
2. азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-),
3. супероксид анјон радикал (O_2^-),

4. водоник пероксид (H_2O_2),

док су се из еритроцита одређивале вредности антиоксидационих ензима:

5. каталаза (CAT),

6. супероксид дисмутаза (SOD),

7. глутатион пероксидаза (GSH).

Патохистолошке анализе срца

За патохистолошку анализу се користило ткиво леве коморе срца. Узорци поменутог ткива су били фиксирани у пуферизованом формалину и потом уграђени у парафинске калупе. Након тога приступило се сечењу и бојењу хематоксилин/еозином.

3.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно публиковане студије сличног дизајна (125). 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 (126).

Узимајући у обзир резултате ове студије, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 30 (по 6 у свакој групи). Међутим, због могућности искључења експерименталних животиња из завршне анализе, укупни студијски узорак је утврђен на најмање 40 експерименталних животиња (по 8 у свакој групи).

3.6. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА

Статистичка анализа резултата је спроведена коришћењем статистичког програма SPSS 22.0 за *Windows*. Параметри од значаја су се у зависности од њихове природе изражавали као: фреквенција, проценти, средња вредност, стандардна девијација и 95% интервали поверења. У циљу процене нормалности расподеле употребљавао се *Kolmogor-ov Smirn-ov* и *Shapir Wilk* тест као и графици. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користио се Студентов *t*-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишиеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе.

IV

РЕЗУЛТАТИ

4.1. Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на кардиодинамске параметре изолованог срца пацова

На Графицима 1 до 7 приказана је динамика параметара функције миокарда мерених у *ex vivo* условима. Вредности главних параметара за праћење контрактилности срца, $dp/dt \max$ и $dp/dt \min$ се значајно разликују у свим групама у поређењу са вредностима CTRL групе. На почетку периода реперфузије (R1-R30), вредности $dp/dt \max$ су повишене у sAnT групи, али је касније долази до повећања вредности у sAeT групи у поређењу са CTRL групом (График 1). С друге стране, вредности $dp/dt \max$ у протоколу трчања су значајно смањене у rAnT групи у поређењу са аеробним трчањем и седентарном групом животиња (График 2). Из табеле 1 се може приметити да су се у већини мерених тачака промене $dp/dt \max$ у протоколима пливања и трчања разликовале у поређењу са контролним условима (Табела 4).

График 1. Вредности максималне брзине развоја притиска леве коморе у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 1.

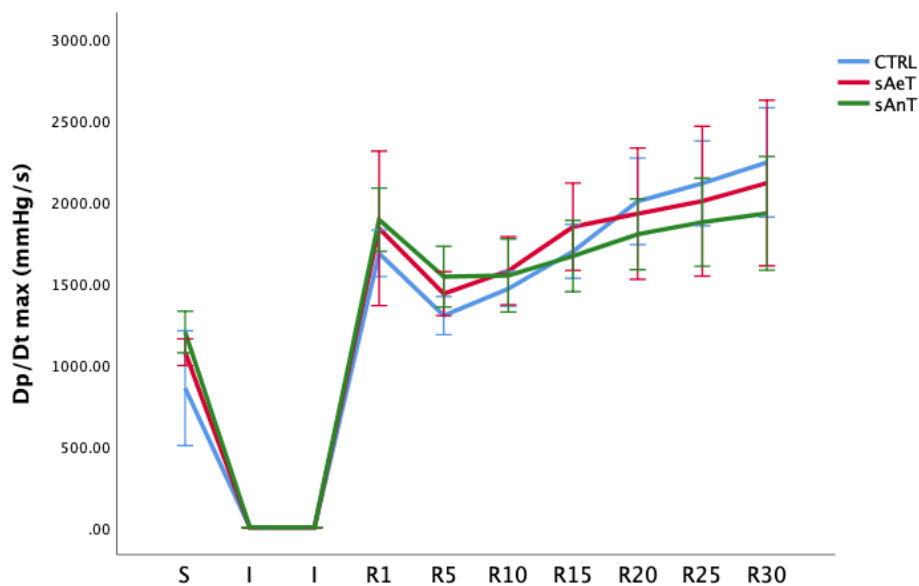
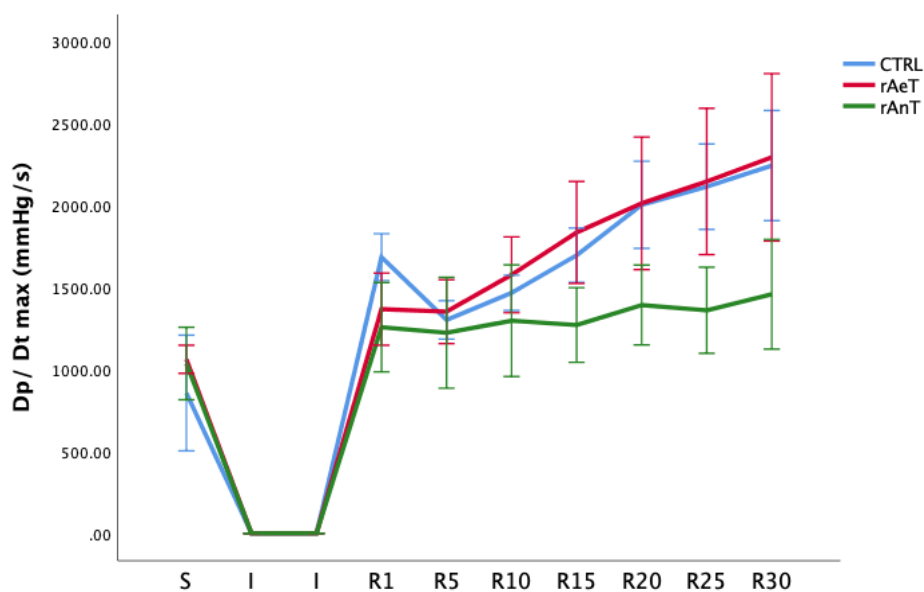


График 2. Вредности максималне брзине развоја притиска леве коморе у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 2.



Error bars: 75% CI

У табели 4 је приказана промена вредности максималне брзине развоја притиска леве коморе у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}]_{\text{Rx}} - [\text{вредност}]_{\text{S}}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	sAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	35,80	44,93	39,20	-22,57	p<0.05 ^{a-f}
R5	6,63	14,35	2,23	-17,02	p<0.05 ^{a-f}
R10	14,17	26,53	58,28	3,65	p<0.05 ^{a-f}
R15	30,48	36,90	83,96	15,03	p<0.05 ^{a-f}
R20	11,45	41,99	113,00	28,43	p<0.05 ^{a-f}
R25	18,32	48,58	131,00	4,58	p<0.05 ^{a-f}
R30	21,92	58,36	161,28	9,15	p<0.05 ^{a-f}

Табела 4. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности максималне брзине развоја притиска леве коморе у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Други параметар за процену контрактилности срца - dp/dt min, такође се значајно разликовао током примене различите врсте и интензитета тренинга. То значи да су током протокола пливања, вредности dp/dt min у R периоду биле скоро исто повишене у обе групе (sAeT и sAnT), а када је у питању тренинг трчања, аеробни протокол је индуковао повећану контрактилност срца (Графици 3 и 4 и Табела 5).

График 3. Вредности минималне брзине развоја притиска леве коморе у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 3.

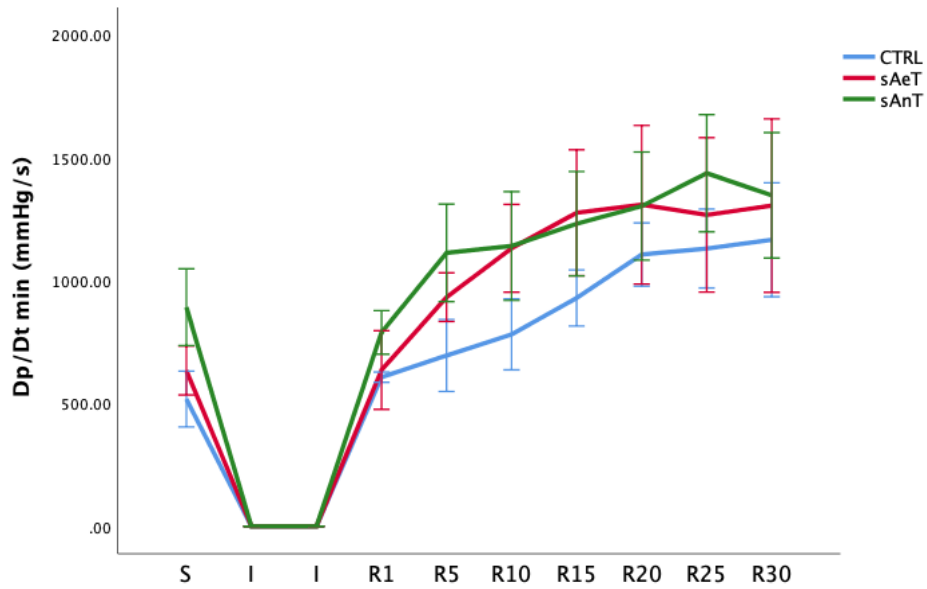
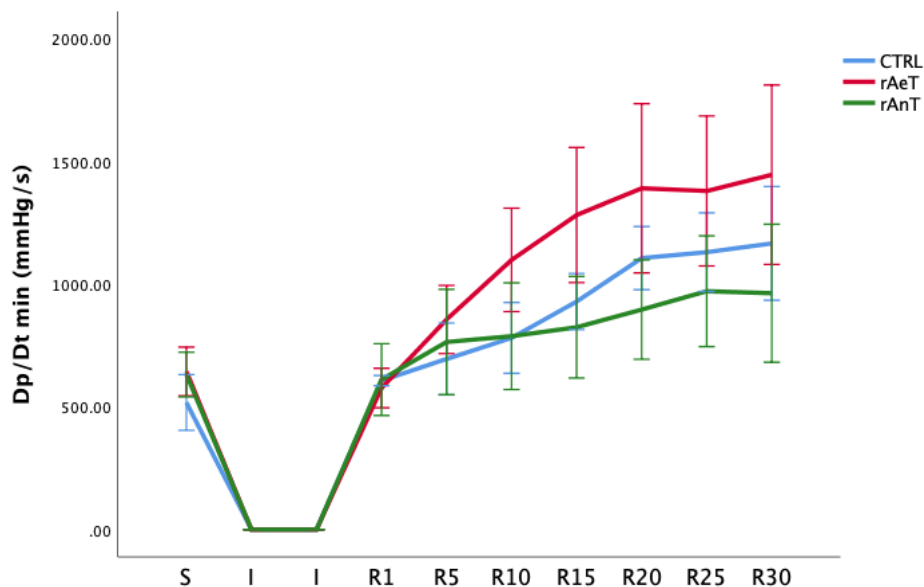


График 4. Вредности минималне брзине развоја притиска леве коморе у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност ± стандардна грешка средње вредности.

График 4.



У табели 5 је приказана промена вредности минималне брзине развоја притиска леве коморе у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - \frac{[\text{вредност}]_{\text{Rx}} - [\text{вредност}]_{\text{S}}}{[\text{вредност}]_{\text{S}}} * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	sAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-23,14	-39,30	-5,03	-45,67	p<0.05 ^{a-f}
R5	1,34	-7,72	-11,16	-27,95	p<0.05 ^{a-f}
R10	11,41	16,83	62,03	-10,82	p<0.05 ^{a-f}
R15	20,89	29,56	88,47	-16,69	p<0.05 ^{a-f}
R20	-1,75	31,86	127,31	-2,09	p<0.05 ^{a-f}
R25	-3,26	32,35	115,90	-8,57	p<0.05 ^{a-f}
R30	-4,07	28,41	147,36	-34,50	p<0.05 ^{a-f}

Табела 5. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности минималне брзине развоја притиска леве коморе у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Вредности систолног притиска у левој комори су значајно повећане током анаеробних протокола пливању и трчања. Обе врсте протокола, аеробни и анаеробни довели су до значајног повећања SLVP у оба типа тренинга (Графици 5 и 6 и Табела 6).

График 5. Вредности систолног притиска у левој комори у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 5.

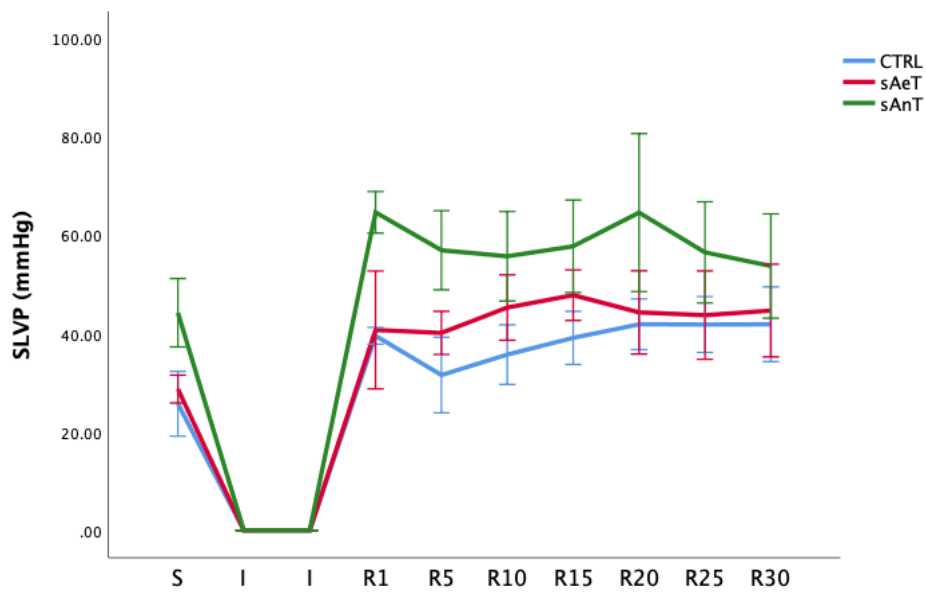
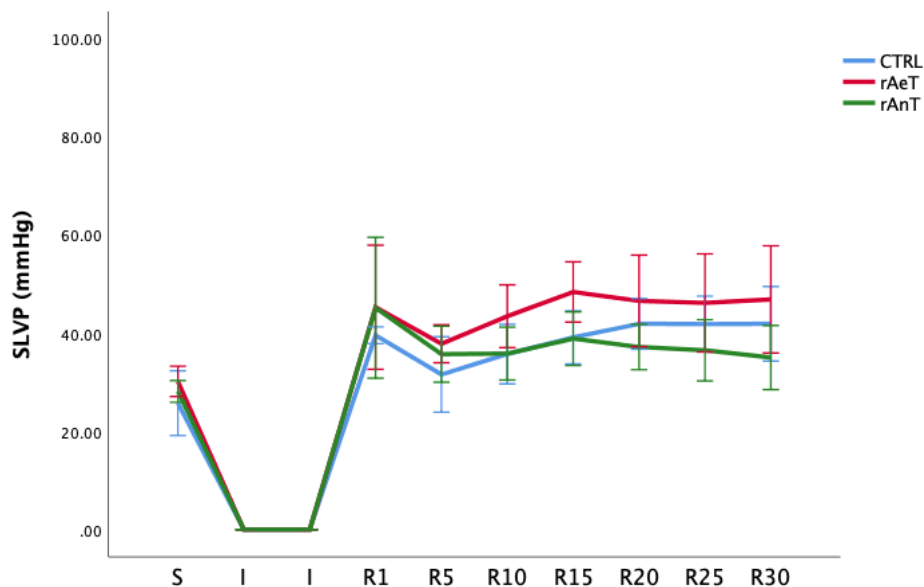


График 6. Вредности систолног притиска у левој комори у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност ± стандардна грешка средње вредности.

График 6.



У табели 6 је приказана промена вредности систолног притиска у левој комори у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}]_{\text{Rx}} - [\text{вредност}]_{\text{S}}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	sAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	12,23	18,26	107,15	-19,61	p<0.05 ^{a-f}
R5	3,66	2,68	4,87	-1,66	p>0.05
R10	4,75	19,73	43,67	12,52	p>0.05
R15	39,11	22,75	62,49	-0,54	p<0.05 ^{a-f}
R20	-14,81	24,50	72,93	9,91	p<0.05 ^{a-f}
R25	-18,12	24,05	72,93	-11,90	p<0.05 ^{a-f}
R30	-19,11	19,38	80,38	-20,30	p<0.05 ^{a-e}

Табела 6. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности систолног притиска у левој комори у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Вредности дијастолног притиска у левој комори су значајно повећане у анаеробним протоколима пливања и трчања, а такође су уочене и повећана контрактилност и

притисак у левој комори у тренинг групама у поређењу са седентарном (контролном) групом (Графици 7 и 8 и Табела 7).

График 7. Вредности дијастолног притиска у левој комори у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 7.

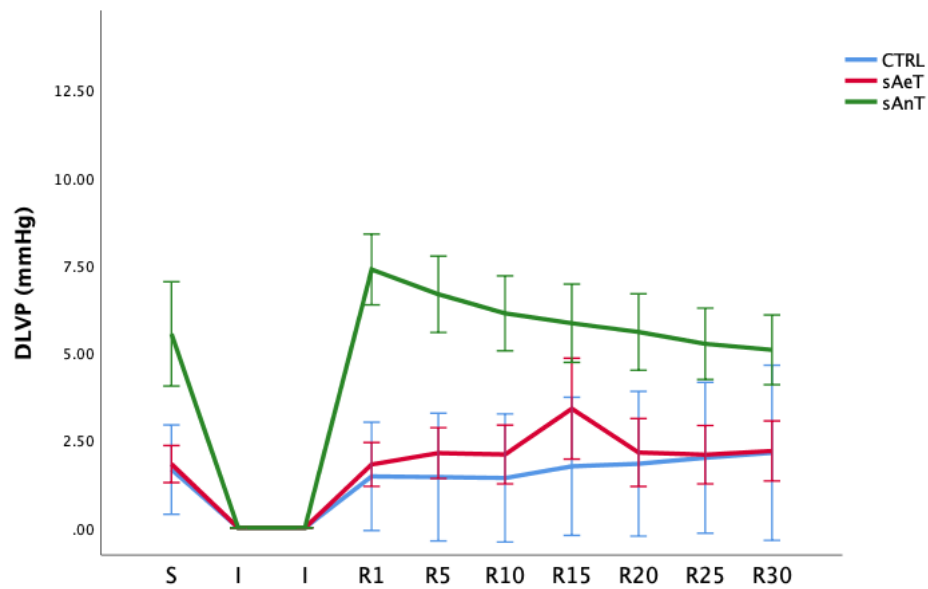
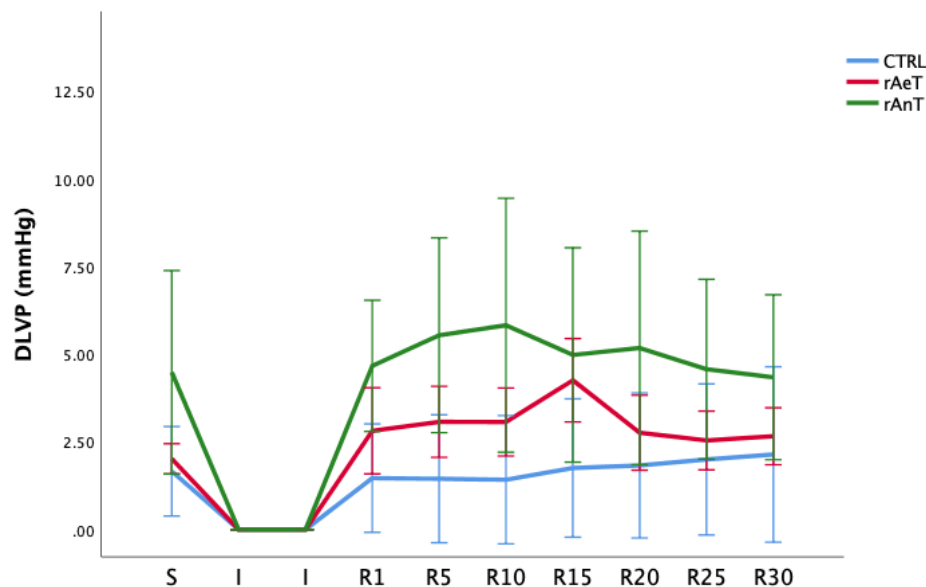


График 8. Вредности дијастолног притиска у левој комори у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 8.



У табели 7 је приказана промена вредности дијастолног притиска у левој комори у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}]_{\text{Rx}} - [\text{вредност}]_{\text{S}}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	aAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-59,31	8,14	160,87	-23,88	p<0.05 ^{a-f}
R5	-46,90	5,16	137,50	6,34	p<0.05 ^{a-d}
R10	381,38	-4,47	141,85	28,90	p<0.05 ^{a-f}
R15	-62,76	-6,77	154,35	9,55	p<0.05 ^{a-f}
R20	-66,90	-11,35	139,67	16,91	p<0.05 ^{a-f}
R25	-48,28	-13,88	100,54	-5,64	p<0.05 ^{a-f}
R30	-47,59	-18,92	113,04	-12,61	p<0.05 ^{a-f}

Табела 7. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности дијастолног притиска у левој комори у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Врло интересантна чињеница је уочена када говоримо о броју откуцаја срца у минути, чија је вредност значајно смањена у оба протокола пливања након периода исхемије. Са

друге стране, протокол анаеробног трчања је индуковао значајно смањење срчане фреквенције у поређењу са аеробним трчањем и седентарним (Графици 9 и 10 Табела 8).

График 9. Вредности броја откуцаја срца у минути у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 9.

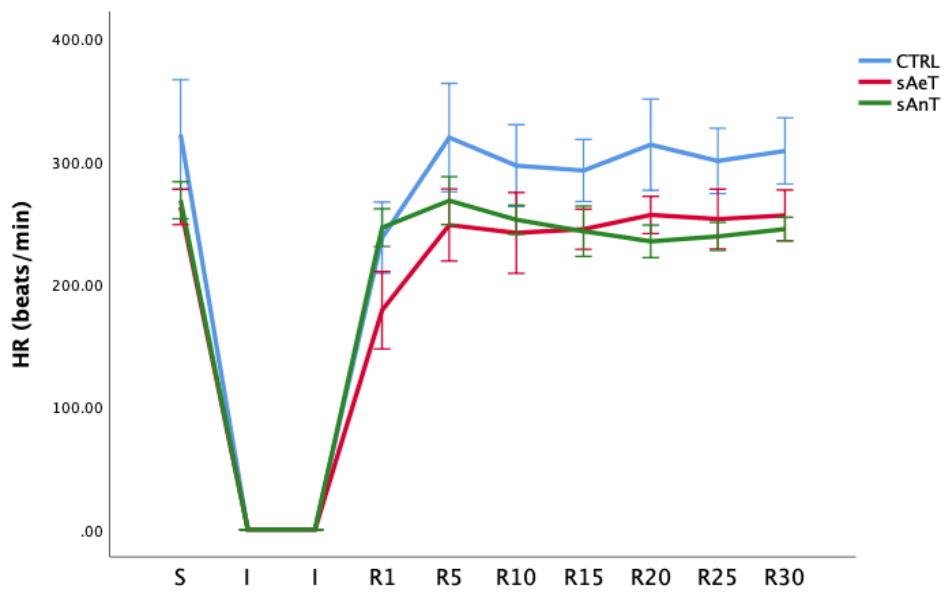
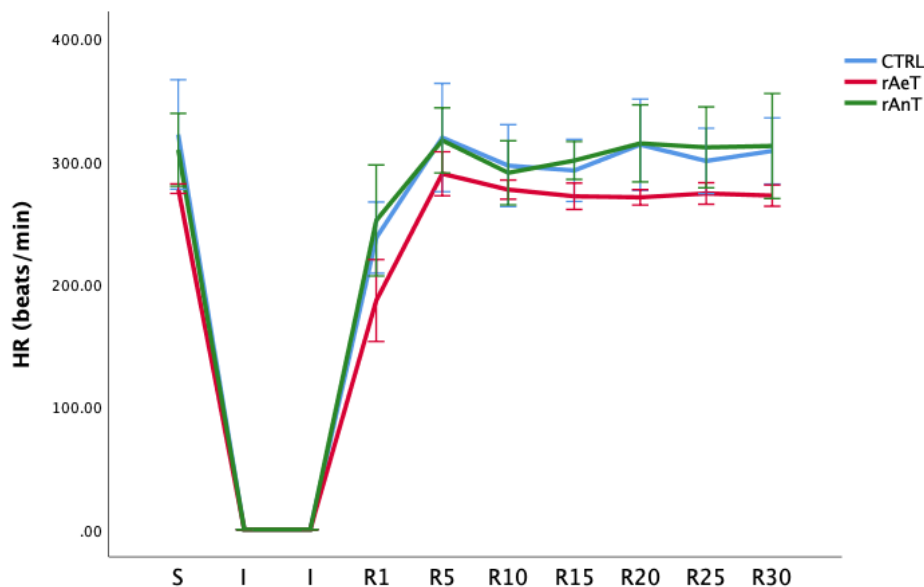


График 10. Вредности броја откуцаја срца у минути у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност ± стандардна грешка средње вредности.

График 10.



У табели 8 је приказана промена вредности броја откуцаја срца у минути у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}] R_x - [\text{вредност}] S) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	aAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-9,13	-12,47	-23,55	-52,97	p<0.05 ^{d,e,f}
R5	-5,03	-6,32	16,24	-7,75	p<0.05 ^e
R10	0,47	-15,07	4,51	-28,41	p<0.05 ^{a-f}
R15	-8,74	-18,20	0,20	-17,09	p<0.05 ^{a-f}
R20	-0,46	-20,83	1,12	-1,22	p<0.05 ^a
R25	0,47	-18,53	4,01	1,88	p<0.05 ^{a,b,e}
R30	1,67	-12,47	2,31	7,84	p<0.05 ^{a,b,e}

Табела 8. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности броја откуцаја срца у минути у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

На крају, анализирали смо и параметар за процену коронарне циркулације, коронарни проток, где је вредност за сваку тачку измерена понаособ флуорометријском методом.

Приметили смо да је анаеробни тренинг пливања довео до смањења вредности срчане фреквенције у R периоду у поређењу са аеробном и контролном групом. Насупрот томе, протоколи аеробног и анаеробног трчања су довели до значајног смањења откуцаја срца током R периода у поређењу са CTRL групом (Графици 11 и 12 и Табела 9).

График 11. Вредности коронарног протока у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 11.

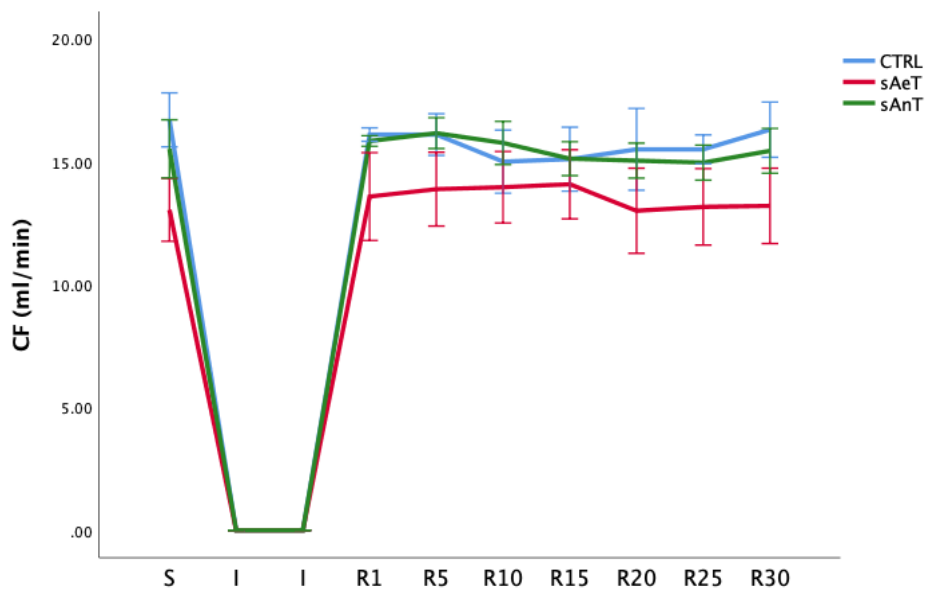
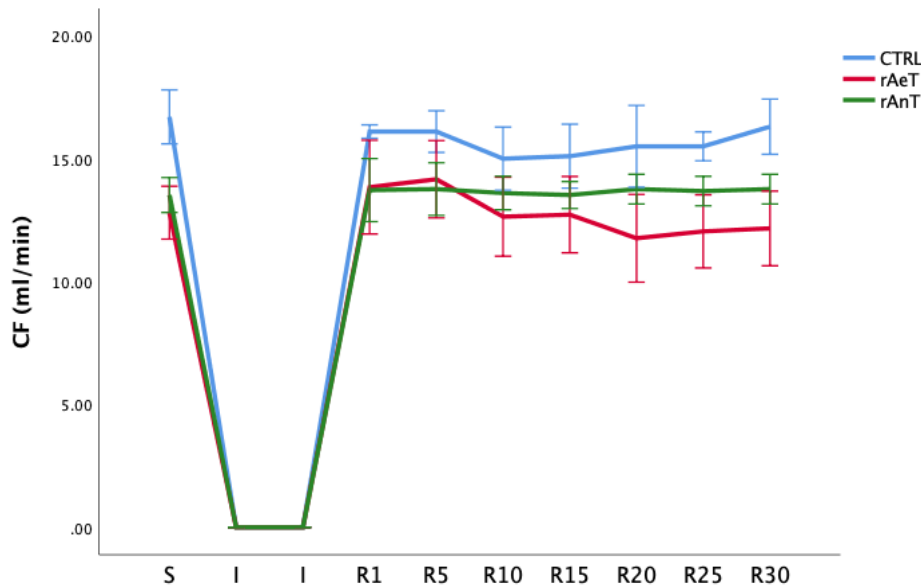


График 12. Вредности коронарног протока у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност ± стандардна грешка средње вредности.

График 12.



У табели 9 је приказана промена вредности коронарног протока у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}]_{\text{Rx}} - [\text{вредност}]_{\text{S}}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем ANOVA and Tukey post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT;

Група	aAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-8,33	-14,89	14,29	-12,07	p<0.05 ^{b,e}
R5	10,00	-4,26	11,43	-6,90	p<0.05 ^{b,e}
R10	16,67	-4,26	-30,00	0,00	p<0.05 ^{b,e}
R15	20,00	-12,77	-28,57	3,45	p<0.05 ^{b,e}
R20	-6,67	-10,64	-35,71	3,45	p<0.05 ^{b,d}
R25	-8,33	-10,64	-28,54	3,41	p<0.05 ^{b,d}
R30	-6,67	-4,26	-28,57	3,39	p<0.05 ^{b,d}

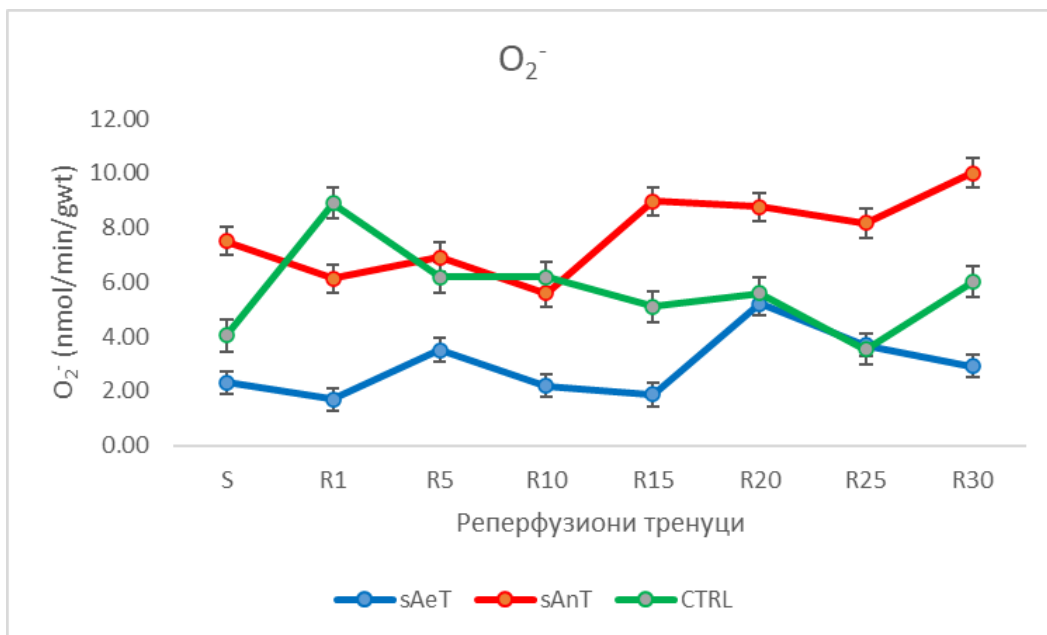
Табела 9. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности коронарног протока у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

4.2. Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту

На Графицима од 13 до 20 приказан је ефекат аеробних и анаеробних тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у ефлуенту у контролним и експерименталним условима. Резултати поменутих параметара су приказани као средња вредност уз стандардну грешку ($X \pm SD$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$.

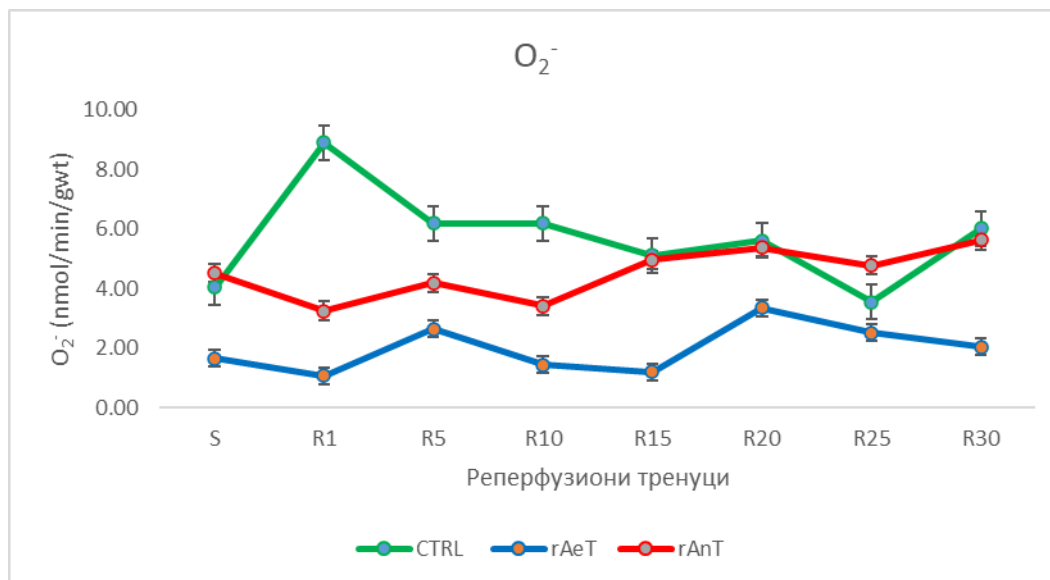
На Графику 13. су приказане вредности супероксид анјон радикала и то у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 13.



На Графику 14. су приказане вредности супероксид ањон радикала и то у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 14.



У табели 10 је приказана промена вредности супероксид ањон радикала у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}]_{Rx} - [\text{вредност}]_{S}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT; g= CTRL vs sAeT; h= CTRL vs sAnT; i= CTRL vs sAeT; j= CTRL vs rAeT; k= CTRL vs rAnT.

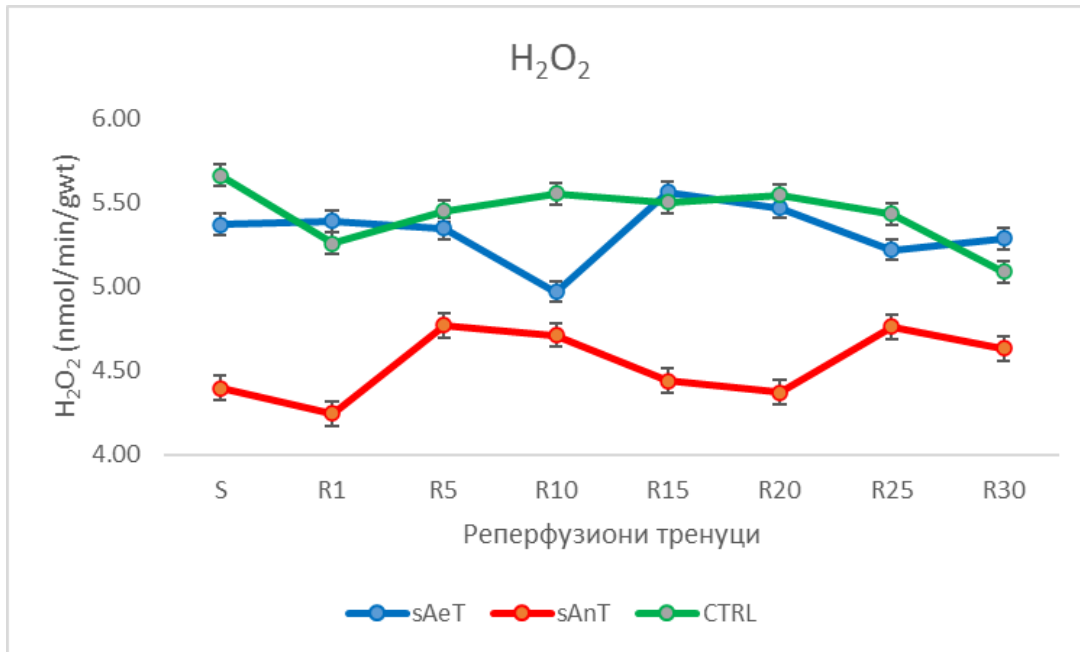
Група	sAeT	sAnT	CTRL	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-26.19	-18.42	120.41	-35.46	-28.01	$p > 0.05^{a-k}$
R5	52.38	-7.89	53.06	58.85	-7.38	$p > 0.05^{a-k}$
R10	-4.76	-25.44	53.06	-13.67	-24.62	$p > 0.05^{a-k}$
R15	-19.05	19.30	26.53	-27.53	9.97	$p > 0.05^{a-k}$
R20	126.19	16.67	38.78	102.26	18.88	$p > 0.05^{a-k}$
R25	59.52	8.77	-12.24	51.69	5.74	$p > 0.05^{a-k}$
R30	26.19	33.33	48.98	22.38	24.47	$p > 0.05^{a-k}$

Табела 10. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности супероксид ањон радикала у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Поређењем вредности супероксид ањон радикала из ефлуента након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

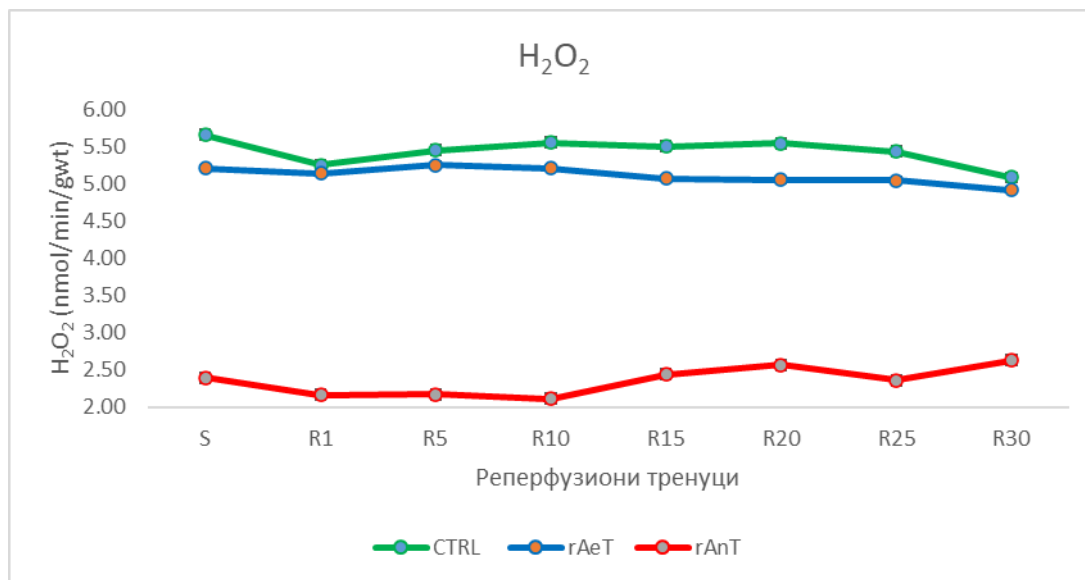
На Графику 15. су приказане вредности водоник пероксида и то у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 15.



На Графику 16. су приказане вредности водоник пероксида и то у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност ± стандардна грешка средње вредности.

График 16.



У табели 11 је приказана промена вредности водоник пероксида у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - \frac{[\text{вредност}]_{R_x} - [\text{вредност}]_S}{[\text{вредност}]_S} * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs rAnT; f= rAeT vs. rAnT; g= CTRL vs sAeT; h= CTRL vs sAnT; i= CTRL vs sAeT; j= CTRL vs rAeT; k= CTRL vs rAnT.

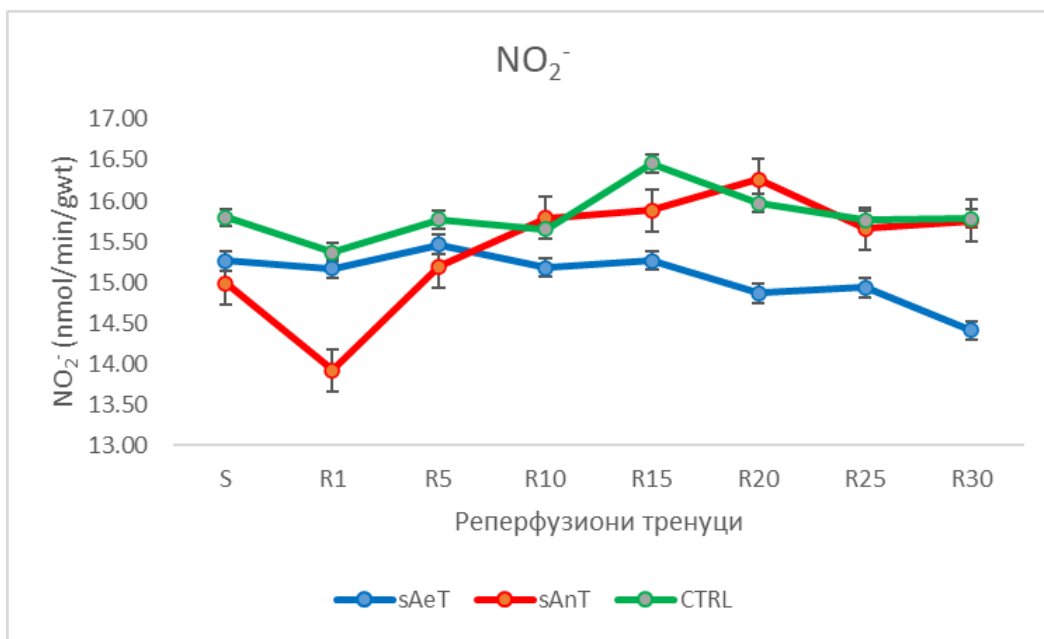
Група	sAeT	sAnT	CTRL	rAeT	rAnT	p вредност
R1	0.36	-3.46	-7.12	-1.33	-9.83	p>0.05 ^{a-k}
R5	-0.43	8.48	-3.66	0.81	-9.47	p>0.05 ^{a-k}
R10	-7.43	7.12	-1.83	0.00	-11.96	p>0.05 ^{a-k}
R15	3.57	0.94	-2.75	-2.65	1.73	p>0.05 ^{a-k}
R20	1.86	-0.63	-2.03	-3.02	7.19	p>0.05 ^{a-k}
R25	-2.79	8.27	-3.97	-3.17	-1.51	p>0.05 ^{a-k}
R30	-1.57	5.34	-10.07	-5.60	9.79	p>0.05 ^{a-k}

Табела 11. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности водоник пероксида у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Поређењем вредности водоник пероксида из ефлуента након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

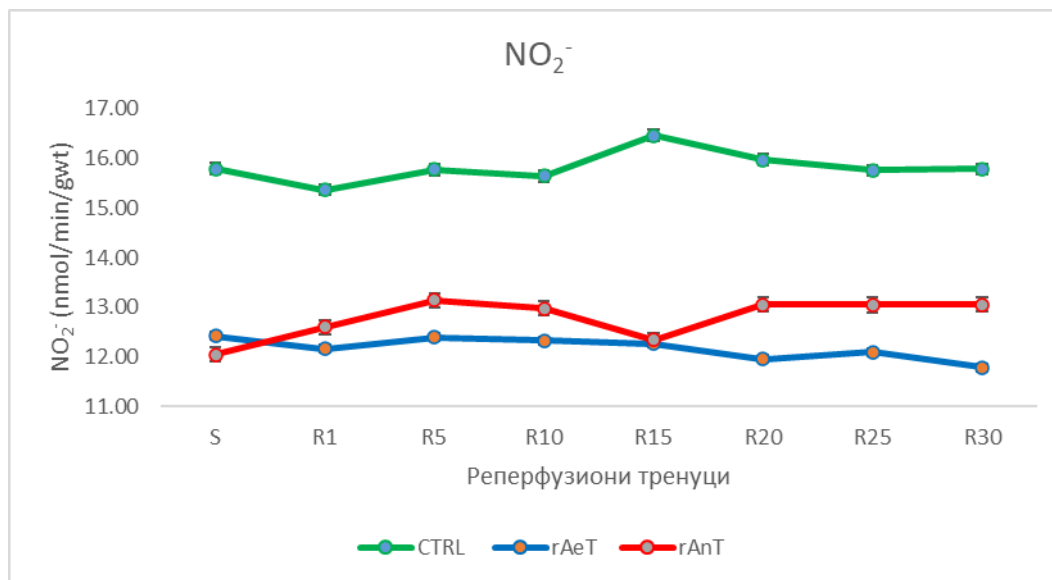
На Графику 17. су приказане вредности нитрита и то у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 17.



На Графику 18. су приказане вредности нитрита и то у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 18.



У табели 12. је приказана промена вредности нитрита у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}] \text{ R}_x - [\text{вредност}] \text{ S}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT; g= CTRL vs sAeT; h= CTRL vs sAnT; i= CTRL vs sAeT; j= CTRL vs rAeT; k= CTRL vs rAnT.

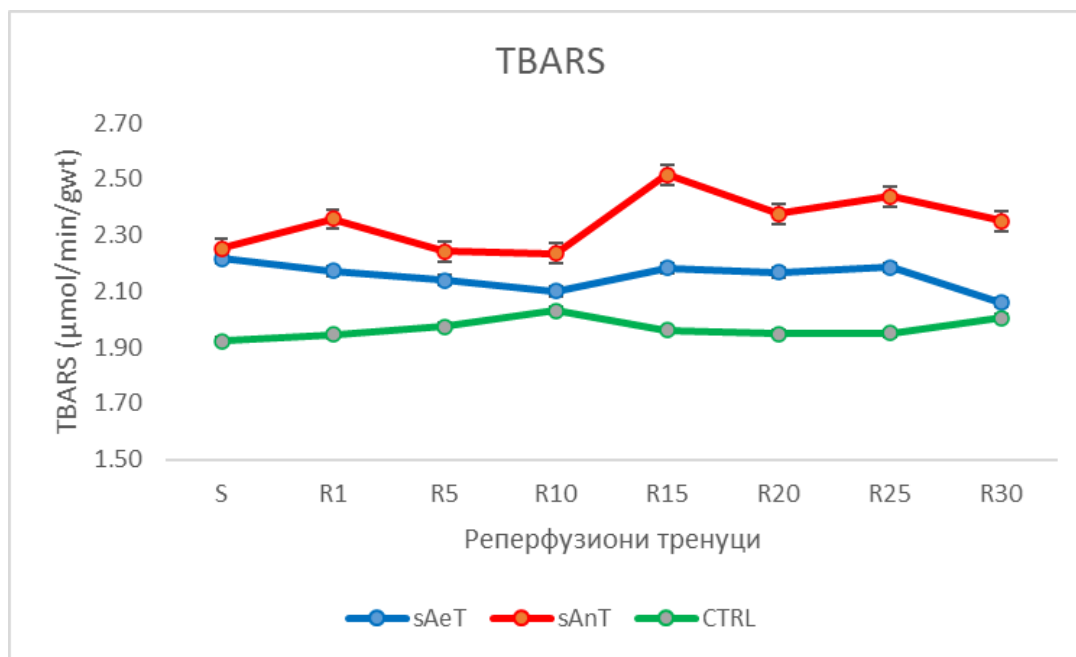
Група	sAeT	sAnT	CTRL	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-0.59	-7.13	-2.71	-2.07	4.64	$p > 0.05^{a-k}$
R5	1.32	1.39	-0.13	-0.28	9.13	$p > 0.05^{a-k}$
R10	-0.55	5.35	-0.93	-0.73	7.69	$p > 0.05^{a-k}$
R15	0.05	5.96	4.23	-1.29	2.44	$p > 0.05^{a-k}$
R20	-2.60	8.47	1.12	-3.75	8.39	$p > 0.05^{a-k}$
R25	-2.14	4.46	-0.20	-2.63	8.31	$p > 0.05^{a-k}$
R30	-5.56	5.13	-0.07	-5.10	8.31	$p > 0.05^{a-k}$

Табела 12. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности нитрита у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Поређењем вредности нитрита из ефлуента након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

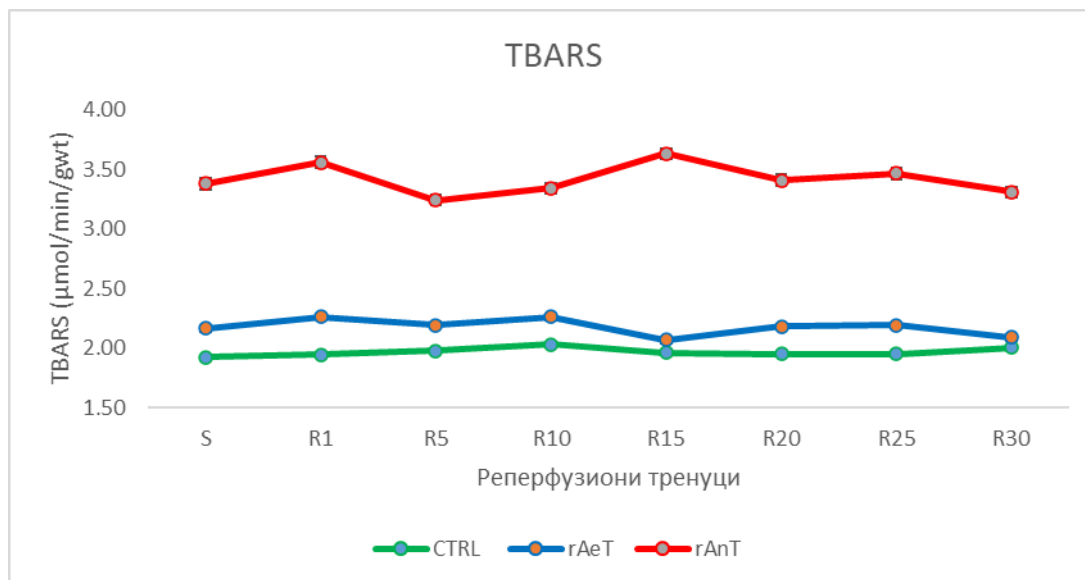
На Графику 19. су приказане вредности индекса липидне пероксидације и то у групама: CTRL, sAeT и sAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 19.



На Графику 20. су приказане вредности индекса липидне пероксидације и то у групама: CTRL, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 20.



У табели 13 је приказана промена вредности индекса липидне пероксидације у свим експерименталним групама и у контролној групи. Вредности су добијене из односа стабилизације (S) и једне од следећих тачака реперфузије (R1-R30), коришћењем прорачуна $100 - ([\text{вредност}] \text{ Rx} - [\text{вредност}] \text{ S}) * 100 = [\text{вредност}] \%$. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs. rAnT; f= rAeT vs. rAnT; g= CTRL vs sAeT; h= CTRL vs sAnT; i= CTRL vs sAeT; j= CTRL vs rAeT; k= CTRL vs rAnT.

Група	sAeT	sAnT	CTRL	rAeT	rAnT	p вредност
R1	-1.99	4.69	1.09	4.53	5.27	$p > 0.05^{a-k}$
R5	-3.52	-0.43	2.65	1.29	-4.05	$p > 0.05^{a-k}$
R10	-5.23	-0.75	5.62	4.44	-1.12	$p > 0.05^{a-k}$
R15	-1.53	11.73	2.03	-4.53	7.48	$p > 0.05^{a-k}$
R20	-2.17	5.54	1.25	0.65	0.88	$p > 0.05^{a-k}$
R25	-1.44	8.32	1.40	1.20	2.53	$p > 0.05^{a-k}$
R30	-7.04	4.37	4.21	-3.51	-2.07	$p > 0.05^{a-k}$

Табела 13. Вредности у табели су приказане као процентуална промена вредности индекса липидне пероксидације у некој од реперфузионих тачака у односу на стабилизациони период.

Поређењем вредности индекса липидне пероксидације из ефлуента након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

4.3. Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у плазми

На графицима 21-24 су приказане вредности прооксидационих маркера и то у групама CTRL, sAeT и sAnT, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 21.

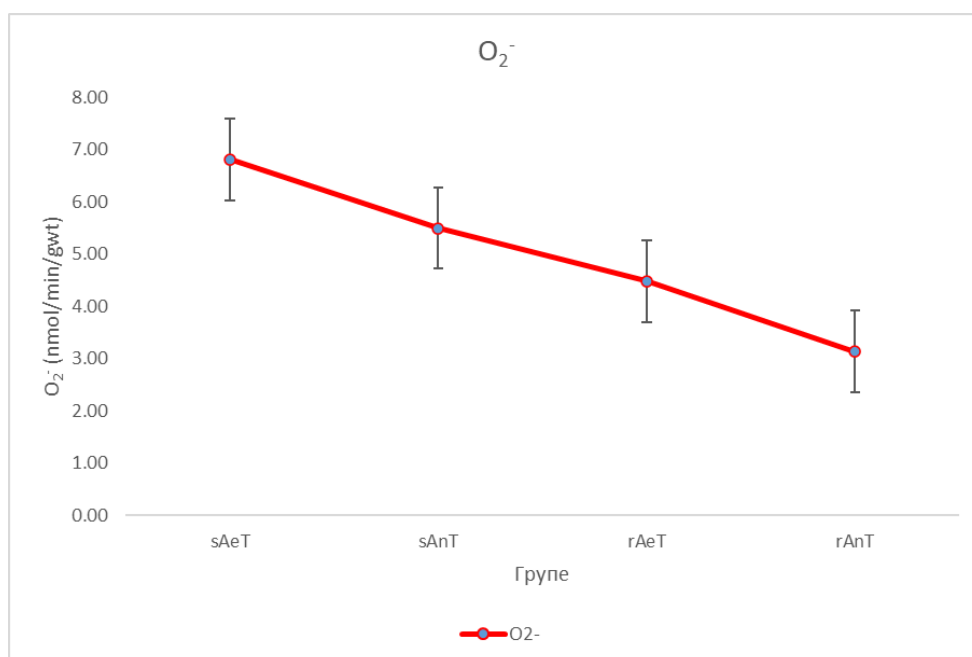


График 22.

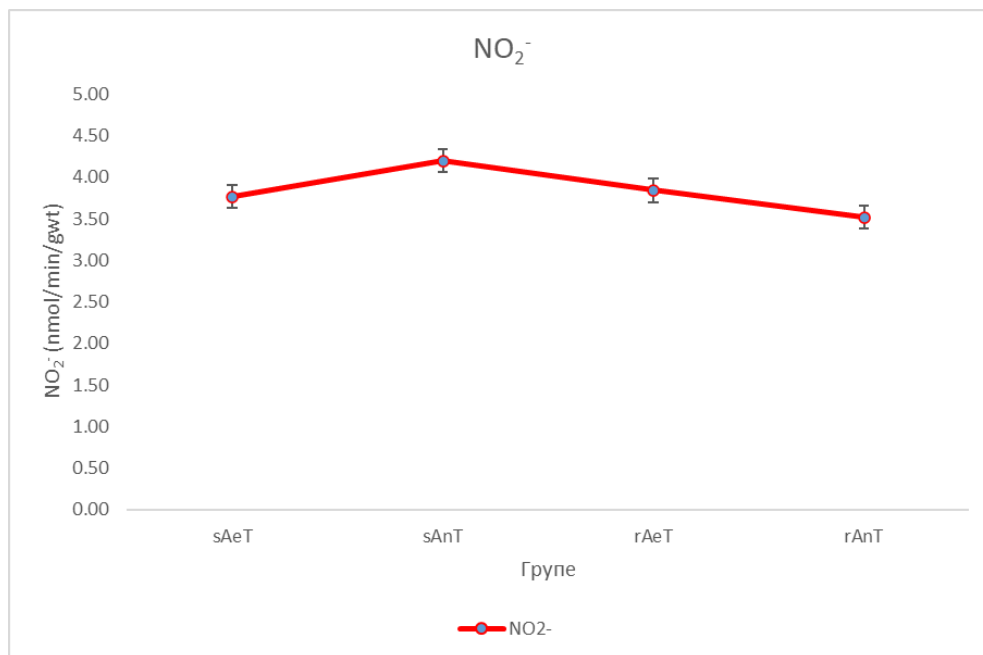


График 23.

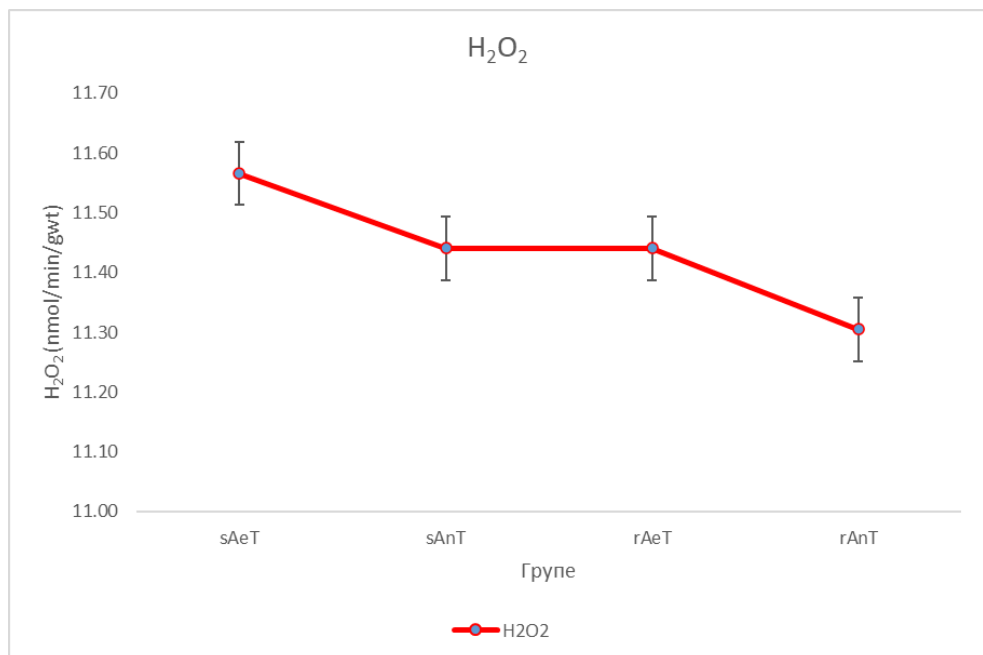
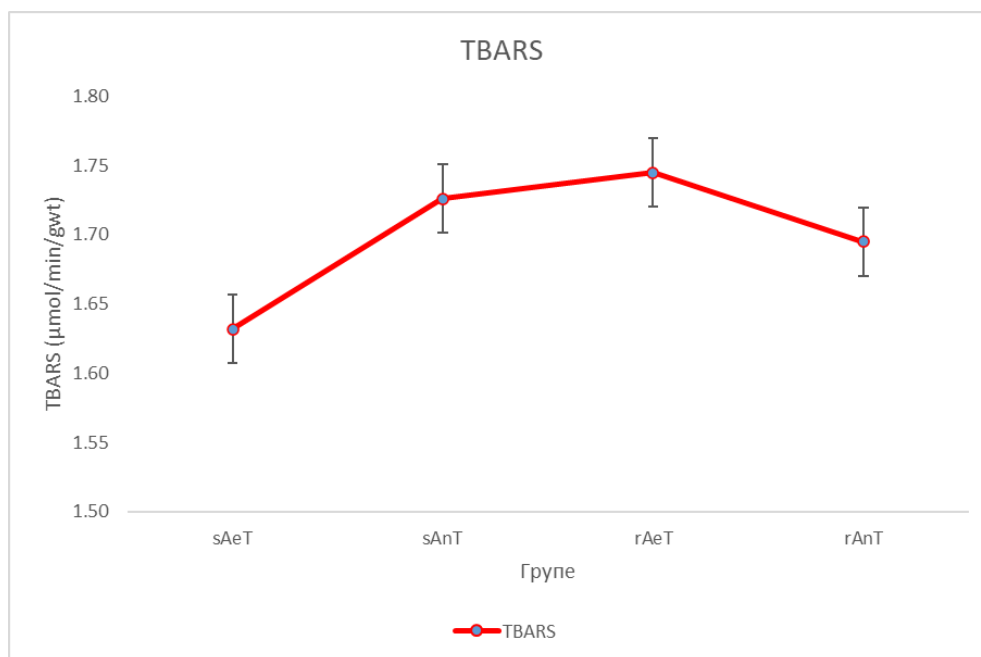


График 24.



У Табели 14 је приказана динамика промене свих про-оксидационих маркера у плазми у односу на примену различитог тренинг протокола. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs rAnT; f= rAeT vs. rAnT.

Група	sAeT	sAnT	rAeT	rAnT	p вредност
O ₂ ⁻	6.8±2.77	5.49±3.29	4.48±0.49	3.13±1.12	p>0.05 ^{a-f}
NO ₂ ⁻	3.76±0.76	4.19±0.48	3.84±0.33	3.51±1.07	p>0.05 ^{a-f}
H ₂ O ₂	11.56±0.66	11.44±0.12	11.44±0.17	11.3±0.07	p>0.05 ^{a-f}
TBARS	1.63±0.07	1.72±0.02	1.74±0.02	1.69±0.02	p>0.05 ^{a-f}

Табела 14. Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну грешку ($X \pm SE$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездицом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звездице (**) уколико је $p < 0,01$. sAeT- аеробни протокол пливања, sAnT анаеробни протокол пливања, rAeT- аеробни протокол трчања, rAnT- анаеробни протокол трчања.

Поређењем вредности про-оксидационих маркера из плазме након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

4.4. Утицај различитих тренинг протокола трчања и пливања на параметре оксидационог стреса изолованог срца пацова у еритроцитима

На графицима 25-27 су приказане вредности маркера антиоксидативне заштите и то у групама CTRL, sAeT и sAnT, rAeT и rAnT. Резултати су представљени као средња вредност \pm стандардна грешка средње вредности.

График 25.

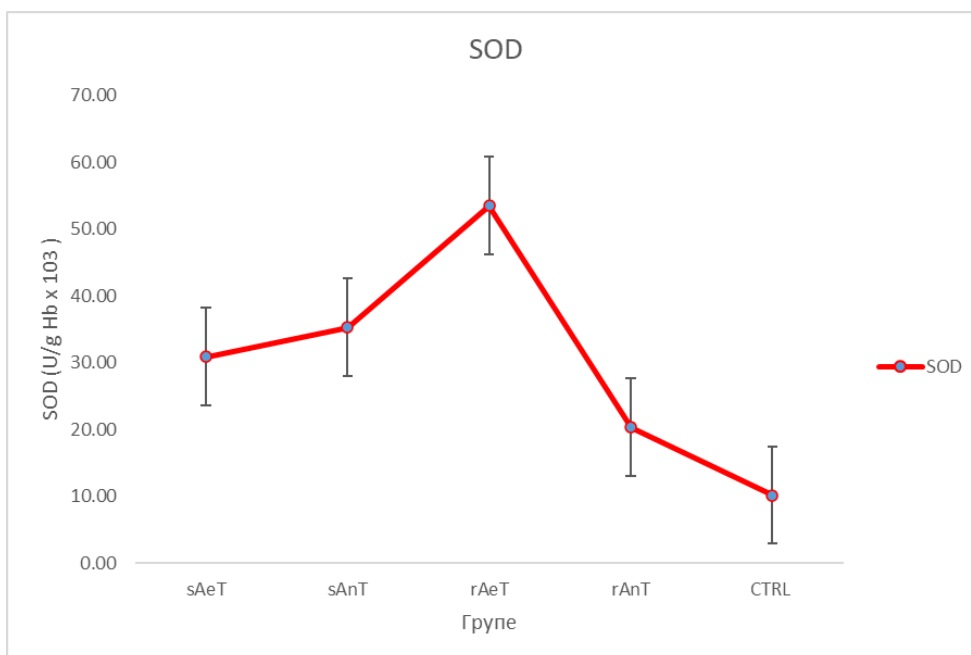


График 26.

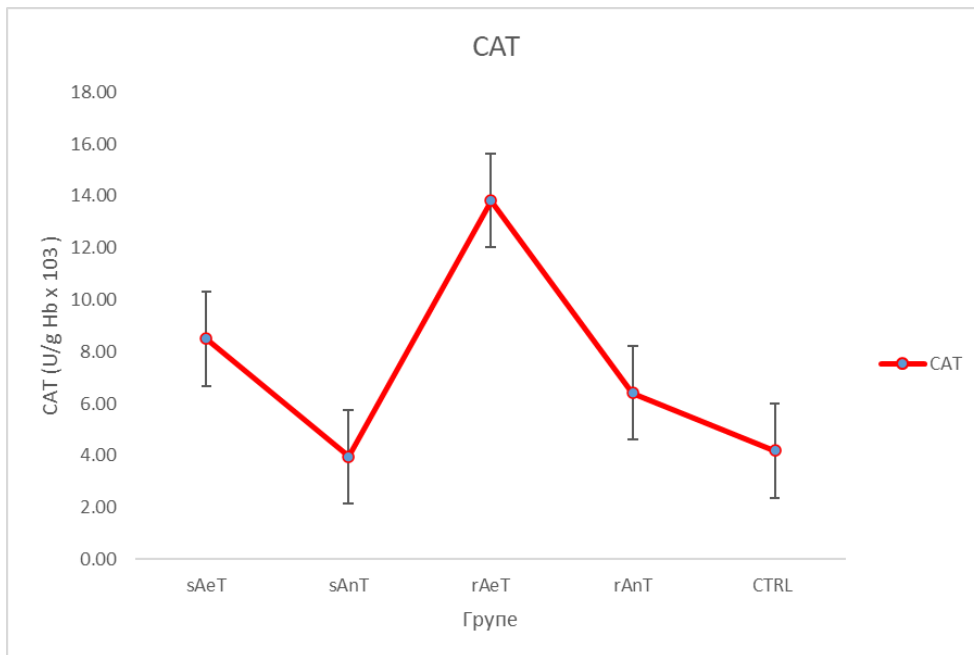
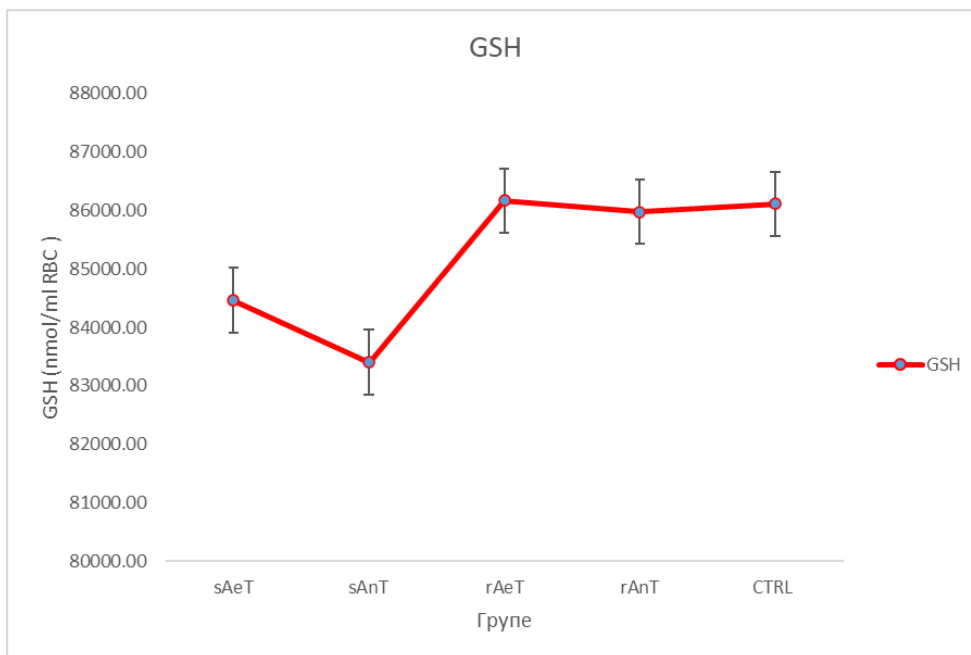


График 27.



У Табели 15. је приказана динамика промене вредности маркера антиоксидативне заштите у еритроцитима у односу на примену различитог програма физичке

активности. Статистичка анализа је урађена коришћењем Kruskal–Wallis и Mann–Whitney U post hoc теста на следећи начин: a= sAeT vs. sAnT; b= sAeT vs. rAeT; c= sAeT vs. rAnT; d= sAnT vs. rAeT; e= sAnT vs rAnT; f= rAeT vs. rAnT; g= CTRL vs sAeT; h= CTRL vs sAnT; i= CTRL vs sAeT; j= CTRL vs rAeT; k= CTRL vs rAnT.

Група	sAeT	sAnT	rAeT	rAnT	CTRL	p
SOD (U/g Hb \times 10 ³)	30.93 \pm 18.56	35.27 \pm 41.39	53.49 \pm 28.14	20.35 \pm 11.22	10.17 \pm 10.24	p>0.05 ^{a-k}
CAT (U/g Hb \times 10 ³)	8.5 \pm 10.99	3.95 \pm 2.3	13.82 \pm 5.76	6.41 \pm 3.93	4.18 \pm 5.57	p>0.05 ^{a-k}
GSH (nmol/ml Er)	84460 \pm 6405	83398 \pm 3777	86165 \pm 4977	85978 \pm 3259	86109 \pm 3670	p>0.05 ^{a-k}

Табела 15. Вредности у табели су приказане као средња вредност уз стандардну грешку ($X\pm SE$), док је статистички значајна разлика испитиваних параметара између контролних и експерименталних услова приказана једном звездом (*) уколико је $p < 0,05$, односно са две звезде (**) уколико је $p < 0,01$.

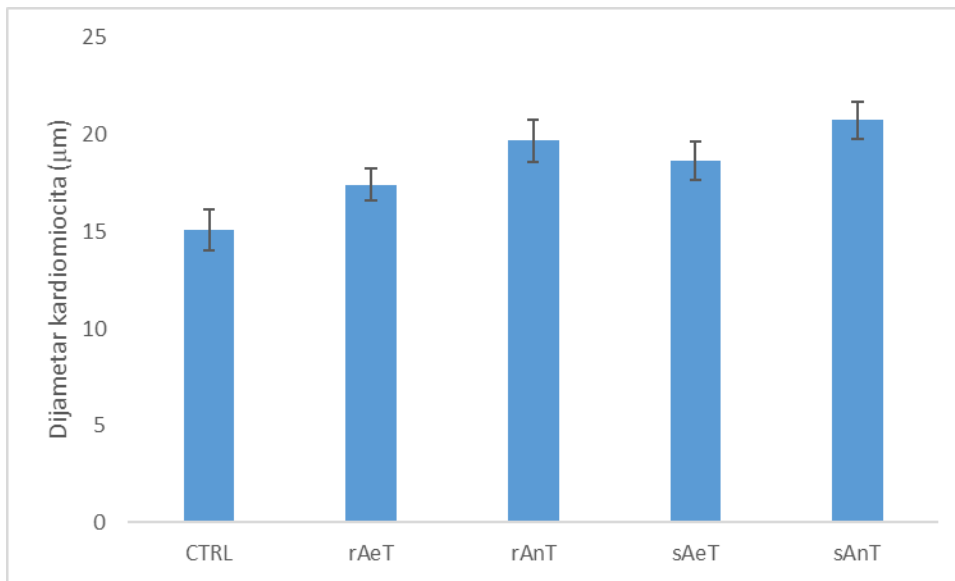
Поређењем вредности маркера антиоксидативне заштите из еритроцита након аеробних и анаеробних тренинг протокола између контролне и експерименталних група, као и између самих експерименталних група, нису добијене статистички значајне разлике.

4.5. Хистолошка анализа

4.5.1. Дијаметар срчане мишићне ћелије

Дијаметар срчане мишићне ћелије пацова повећан је значајно у свим експерименталним групама у поређењу са контролном групом. Тренажни протокол трчања средњег интензитета повећао је дијаметар кардиомиоцита за 14% ($p < 0.05$) док је протокол трчања високог интензитета повећао дијаметар за 28% ($p < 0.05$) у односу на контролу. Интересантно, тренажни протокол пливања значајније је утицао на повећање дијаметра кардиомиоцита у односу на тренажни протокол трчања. Тренинг пливања средњег интензитета повећао је дијаметар срчане мишићне ћелије за 24% ($p < 0.05$) док је тренинг високог интензитета повећао за 37% ($p < 0.05$) у односу на контролне вредности (График 28).

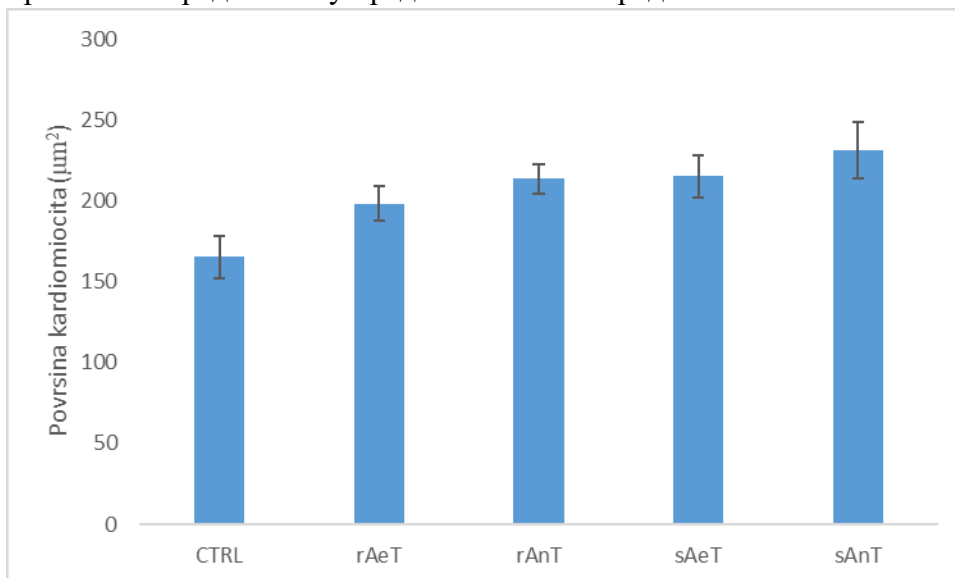
График 28. Вредности дијаметра срчаних мишићних ћелија код различитих тренажних протокола. Вредности су представљене као средње \pm SD.



4.5.2. Површина срчане мишићне ћелије

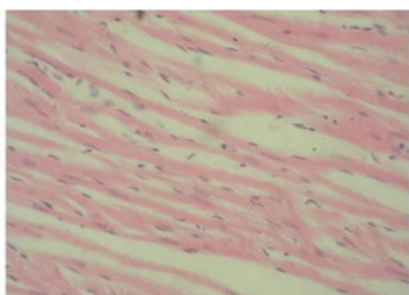
Као и дијаметар, и површина кардиомиоцита повећана је у свим експерименталним групама. У rAeT групи површина срчане мишићне ћелије повећана је за 17% ($p < 0.05$) док је у rAnT групи повећана површина кардиомиоцита за 29% ($p < 0.05$) у односу на контролне вредности. Тренажни протокол пливања средњег интензитета, индуковао је повећање површине кардиомиоцита за 30% ($p < 0.05$) док је тренажни протокол пливања високог интензитета повећао површину ћелије за 40% ($p < 0.05$) у односу на контролу (График 29).

График 29. Вредности површине срчаних мишићних ћелија код различитих тренажних протокола. Вредности су представљене као средње \pm SD.

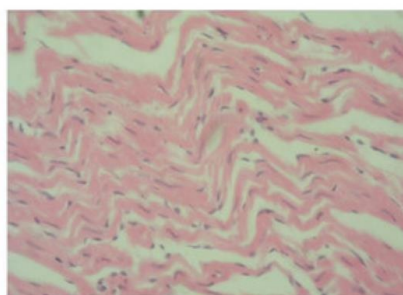


4.5.3. Хистолошки опис слика срца

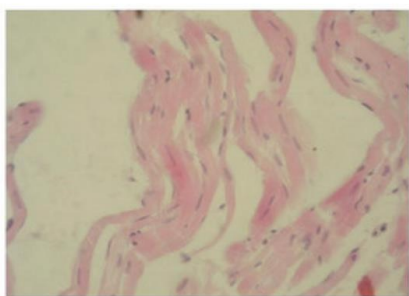
На хистолошким сликама срца, у контролној групи пацова уочен је регуларан распоред мишићних влака, овалних еухроматичних једара, без присуства хипертрофије и таласастих влакана и морфолошких промена. У групама животиња подвргнуте тренингу трчања, уочава се појава присуства таласастих влакана, хипертрофија мишићних ћелија која је израженија у групи животиња подвргнуте rAnT трчања. У групама животиња подвргнуте тренингу пливања, уочава се регуларан распоред мишићних влакана, хипертрофија срчаних мишићних ћелија и појава загупастих једара (Слика 1).



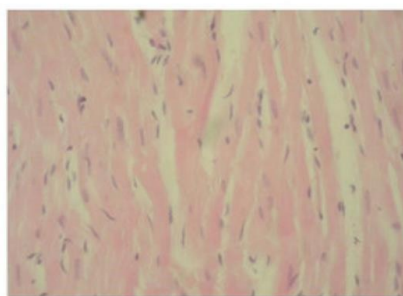
Слика 1.1



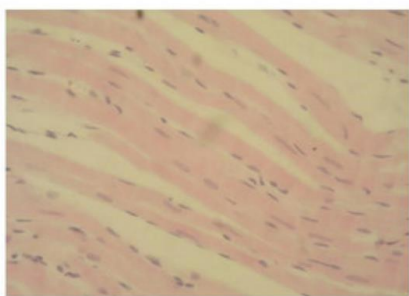
Слика 1.2



Слика 1.3



Слика 1.4



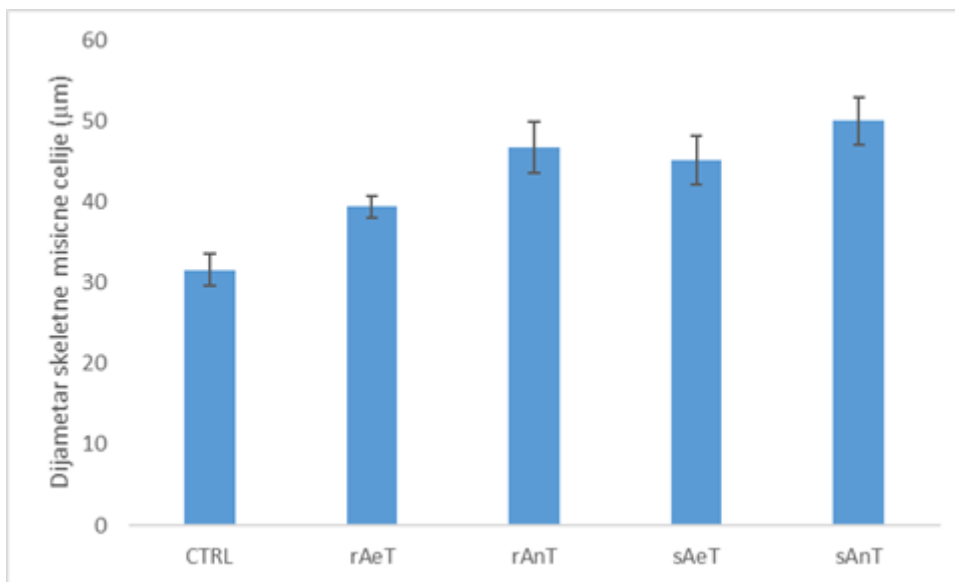
Слика 1.5

Слика 1.(1-5, са лева на десно): Слика 1.1 - изглед срца под микроскопом у CTRL групи; Слика 1.2 - изглед срца под микроскопом у rAeT групи; Слика 1.3 - изглед срца под микроскопом у rAnT групи; Слика 1.4 - изглед срца под микроскопом у sAeT групи; Слика 1.5 - изглед срца под микроскопом у sAnT групи.

4.5.4. Дијаметар скелетне мишићне ћелије квадрицепса

Дијаметар уздужног пресека мишићних ћелија квадрицепса пацова повећан је ($p < 0.05$) у свим експерименталним групама у поређењу са контролном групом. Тренинг трчања средњег интензитета повећао је дијаметар ћелије за 25% ($p < 0.05$), док је тренинг трчања високог интензитета повећао за 48% ($p < 0.05$) у односу на контролне вредности. Са друге стране, у групама животиња које су подвргнуте тренингу пливања уочен је већи степен повећања дијаметра скелетне мишићне ћелије. Тренинг средњег интензитета повећао је дијаметар мишићне ћелије квадрицепса за 43% ($p < 0.05$) док је тренинг пливања високог интензитета повећао за 59% ($p < 0.05$) у поређењу са контролним вредностима (График 30).

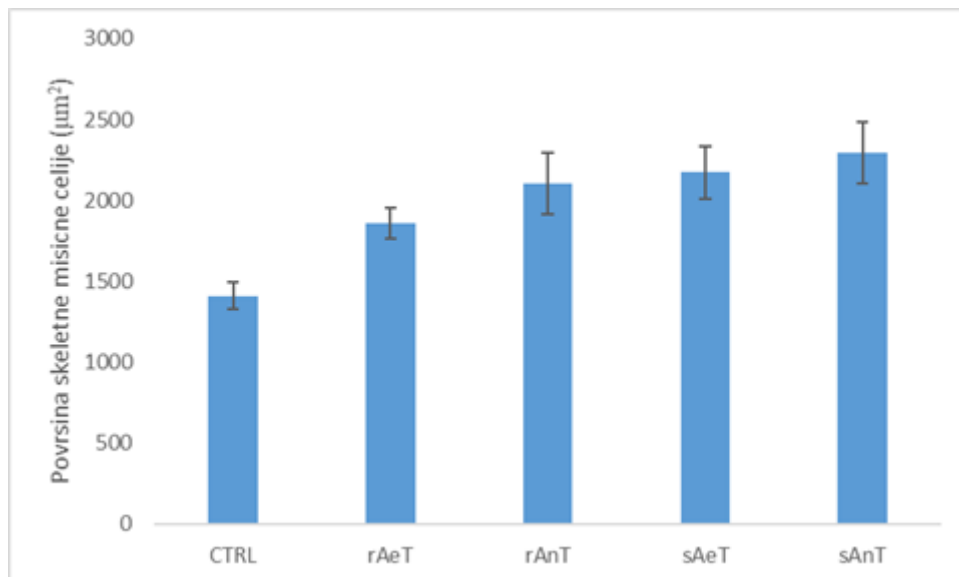
График 30. Вредности дијаметра мишићних ћелија квадрицепса код различитих тренажних протокола . Вредности су представљене као средње \pm SD.



4.5.5. Површине скелетне мишићне ћелије квадрицепса

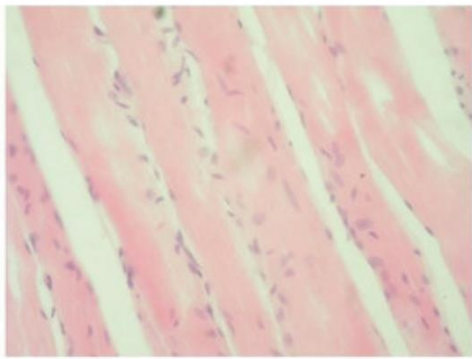
Након завршеног тренажног протокола, површина скелетних мишићних ћелија квадрицепса повећана је rAeT групи за 32% ($p < 0.05$) и у rAnT групи за 49% ($p < 0.05$). Тренинг пливања средњег интензитета, индуковао је повећање површине мишићне ћелије квадрицепса за 54% ($p < 0.05$) док је тренинг пливања високог интензитета повећао површину ћелије за 63% ($p < 0.05$) у односу на контролу (График 31).

График 31. Вредности површине мишићних ћелија квадрицепса код различитих тренажних протокола . Вредности су представљене као средње \pm SD.

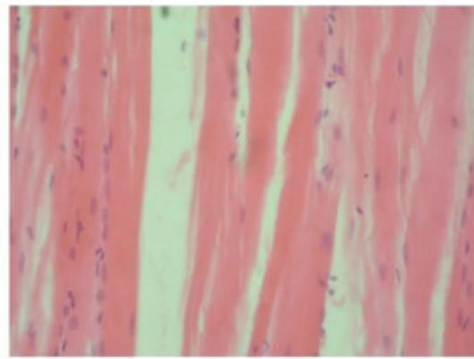


4.5.6. Хистолошки опис слика квадрицепса

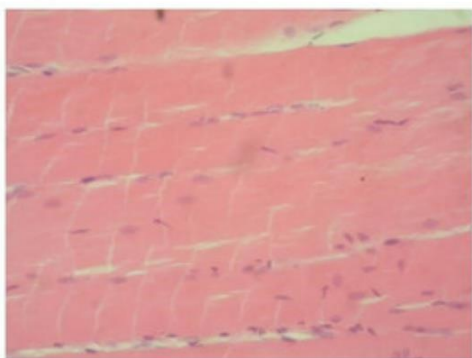
На хистолошким сликама квадрицепса, у контролној групи пацова уочен је регуларан распоред мишићних влака, овалних еухроматичних једра, без присуства хипертрофије и морфолошких промена. У групама животиња подвргнуте тренингу трчања, уочава се регуларан распоред мишићних влакана, еухроматична једра, хипертрофија мишићних ћелија која је израженија у групи животиња подвргнуте rAnT трчања. У групама животиња подвргнуте тренингу пливања, уочава се регуларан распоред мишићних влакана, хипертрофија срчаних мишићних ћелија и еухроматична једра (Слика 2).



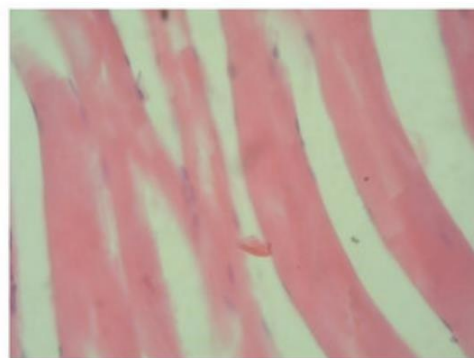
Слика 2.1



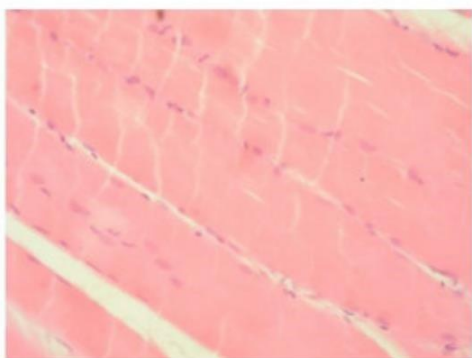
Слика 2.2



Слика 2.3



Слика 2.4



Слика 2.5

Слика 2. (1-5, са лева на десно): Слика 2.1 - изглед квадрицепса под микроскопом у CTRL групи; Слика 2.2 - изглед квадрицепса под микроскопом у rAeT групи; Слика 2.3 - изглед квадрицепса под микроскопом у rAnT групи; Слика 2.4 - изглед квадрицепса под микроскопом у sAeT групи; Слика 2.5 - изглед квадрицепса под микроскопом у sAnT групи.

V
ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Ова студија је спроведена са циљем да испита ефекте прекондиционирања вежбањем на анималном моделу И/Р повреде миокарда односно да утврди утицај различитих типова тренажних процеса на И/Р, као и улогу оксидационог стреса у добијеним ефектима. У складу са овим, генерални циљ био је да се утврди ефекат различитих типова тренажних процеса (трчања и пливања) као видова прекондиционирања на исхемијско/реперфузиону повреду изолованог срца пацова. Осим тога, студија је имала и специфичне циљеве који су се односили на конкретно утврђивање ефеката врсте тренинга на превенцију функционалних оштећења изолованог срца пацова на моделу исхемије/реперфузије, на системски и срчани оксидациони статус, на патохистолошке промене срца код пацова као и да се утврде потенцијалне разлике и повезаности у оствареним ефектима трчања и пливања на кардиоваскуларни систем пацова.

Истраживање је спроведено у експерименталним условима *in vivo* и *ex vivo* лабораторијским условима са основном идејом да би физиолошка метода прекондиционирања у виду тренинга могла побољшати функцију срца и смањити дисфункцију након исхемије миокарда. Наше претклиничко истраживање је спроведено на 60 одраслих мушких негојазних пацова соја Вистар албино који су потврђени као добар и поуздан модел за тестирање протокола вежбања на кардиоваскуларном систему. У истраживањима се обично користи животињски модел акутног и хроничног вежбања (127). Често се акутни тест вежбања користи у различитим комбинацијама, као што су генетске, фармаколошке и друге манипулације. Сви комбиновани протоколи могли би да обезбеде значајан резултат кардиоваскуларног одговора на вежбање и открију промене у кардиоваскуларној функцији које можда нису евидентне у мировању (127). Модели прекондиционирања хроничним вежбањем се користе за проучавање срчаног фенотипског одговора на редовне протоколе вежбања и могу пружити информације о новим путевима који посредују у кардиоваскуларном здрављу (127). Иако је позната већина предности вежбања на кардиоваскуларни систем, још увек је нејасан механизам којим би аеробни и анаеробни тренинг могли да побољшају функцију миокарда.

У погледу изабраног модела испитивања утицаја различитих тренажних протокола на функцију миокарда, анимални модел пацова је потпуно оправдан. Оно што је кључна детерминанта у оваквим испитивањима је одређивање срчаног одговора (eng. cardiac response) мерењем и праћењем одговора на хипертрофију. Најчешћи протоколи који за циљ имају горе поменуто су тренинг пливањем, тредмил и умерено трчање нефорсирано тредмилом и то на моделима пацова и миша. У основи сви ових најчешћих модела је праћење одговора на хипертрофију миокарда, која је различита код пацова и миша и код различитих типова физичке активности. На пример, пацови који су пливали 8 недеља, 5 дана недељно, 75 минута дневно не развијају значајну хипертрофију, док пацови који су пливали 10 недеља, 1 сат дневно показују већ значајну хипертрофију срца (127).

Са друге стране, још увек није тачно јасно какви су ефекти на функцију срца различитих врста и модалитета физичке активности и која је тачна граница на којој се почињу дешавати промене на молекуларном нивоу што је увод у патолошко или превентивно стање. У једној од студија која је покушала да одгонетне ове дилеме пручаван је електрокардиографски одговор мишева који су били сврстани у осам група - четири групе биле су подргнуте физичком тренингу на точковима (брзо ходање), док се четири групе биле седентарне контроле. Статистичком анализом је утврђено да су сви мишеви имали ниже откуцаје срца, док су тренирани мишеви поседовали дуже PR

интервале од контрола. Такође мужјаци мишева су имали већу варијабилност откуцаја срца, за разлику од женки (128).

Раније у овој дисертацији је поменуто да вежбање доприноси редукцији учесталости аритмија и тахикардија и побољшава реактивност коронарних крвних судова у срцу изложеном исхемији-реперфузији (129). У складу са тим, примећује се пораст броја стратегија које имају задатак да ублаже морфо-функционала оштећења срца услед И/Р повреде. Међу првима стратегијама је феномен "прекондиционарања", који су први пут приметили Мари и сарадници (129), који су показали да кратке исхемичне епизоде пре дужег периода исхемије смањују степен оштећења услед инфаркта. Касније се показало да различити стимулуси могу довести до прекондиционарања срца, заједно са новим открићем да постепеним опоравком срца из стања исхемије - "посткондиционарање" такође чува у великој мери функцију миокарда (129).

Прекокондиционарање ублажава настанак И/Р повреде, али обим заштите критично зависи од успостављања реперфузије. У клиничкој пракси, брза реперфузија остаје најбољи третман за спасавање ткива, јер у експерименталним околностима стимулуси одговорни за прекокондиционарање губе ефикасност у смањењу повреде код продужене исхемије (129). Ипак, поновно успостављање коронарног протока наставља да изазива проблеме (реперфузиона повреда). Ипак, иако постоји много потенцијалних третмана који су ефикасни у експерименталним условима, до данас ниједна од предложених метода није инкорпорирана у стандардну клиничку праксу.

Са друге стране епидемиолошки докази указују да постоји јака корелација између редовног вежбања и стопе преживљавања инфаркта миокарда (130). С обзиром на везу између величине инфаркта и смртности, претпоставља се да вежбање доводи до бољег преживљавања редукцијом апоптозе и тако смањује масу инфарктираног ткива. Иако се директна потврда ефеката прекокондиционарања узрокованим вежбањем тешко може квантификовати у хуманој популацији, неколико студија даје доказе о кардиопротекцији насталој услед вежбања на људском срцу. Ламбијаз и сарадници (131) су подвргли вежбању пацијенте са потврђеном коронарном болешћу пре перкутане коронарне интервенције и приметили да је враћање амплитуде ST-сегмента изазвано балон дилатацијом унутар коронарних артерија било 3 минута брже код пацијената који су редовно вежбали.

Иако су у већини студија коришћене млађе животиње, кардиопротекција настала услед вежбања изгледа да се не губи са старењем (132). Ову чињеницу морамо узети у обзир, обзиром на то да већина смртних исхода од миокардијалног инфаркта настане код људи старих од 65 година (132). Постоји неколико сличности између кардиопротекције обезбеђене вежбањем и других метода прекокондиционарања. Временски оквир заштите врло је сличан у различитим моделима, са уским првим временом одржавања заштите, за којим следи "други временски прозор" са присутном скромнијом заштитом (133). У исхемичком прекокондиционарању (IPC) и прекокондиционарању узрокованим акутним вежбањем, величина инфаркта значајно је мања у року од 1 сата од стимулуса, али ова заштита се губи за 24 сата. Други ниво заштите уочен је и након IPC и прекокондиционарања насталим услед вежбања, и у оба случаја други ниво заштите одражава дужи временски оквир (приближно 24-36 сати након стимулуса). Једине студије које су испратиле временски ток заштите обезбеђене вежбањем користиле су један тренинг вежбања (134).

Мада вежбање може имати неке сличности у погледу механизма заштите са IPC (улога реактивних кисеоничних радикала), постоје јасне разлике. На пример, фосфорилација Akt или GSK-3 α уочена је у великом броју модела прекокондиционарања, док приликом прекокондиционарања вежбањем ови сигнални путеви немају битнију улогу

(135). Осим тога, стимулација циклооксигеназа-2 (COX2) сигналног пута често се јавља у различитим моделима прекондиционирања, за разлику од модела прекондиционирања тренингом (135). Многе друге карактеристике прекондиционирања насталог као последица тренинга разликују овај вид кардиопротекције од других. Прво, свака превентивна терапија мора бити одржива током дужих временских периода. Многи експериментални стимулуси највероватније доводе до прекондиционирања срца када се примене једнократно, али у овом тренутку клинички значај једнократне примене ових превентивних мера није велики. Као превентивна мера, изложеност вежбању обезбеђује кардиопротекцију од инфаркта након једног дана или више месеци вежбања. Друго, свака потенцијална терапија мора бити лако доступна пацијентима, а нема терапије која је доступнија пацијентима (или економски приступачнија) од вежбања. С обзиром на ове разлике у односу на класичне моделе прекондиционирања, вежбање је вероватно клинички најрелевантнији стимулус прекондиционирања који је досад проучаван.

Интересантан и изазован аспект у овим истраживањима је утврђивање потребног обима и типа тренинга за индукцију кардиопротекције од исхемијско/реперфузионе (И/Р) повреде. У већини сличних студија из ове области, као модел користи се примена трчања на траци код пацова. У овим истраживањима, 30-60 минута трчања на траци брзином од 27 до 33 метара у минути уз додатних 10-15 минута трчања на нижем интензитету од око 15 метара у минути, често се користи као тренинг протокол. Овакви протоколи константно су доводили до заштите срца од инфаркта при чему је интензитет вежбања износио око 75% максималне потрошње кисеоника (VO_{2max}) (136). Што се тиче вежбања нижег интензитета на траци (око 60% VO_{2max}) и његовог утицаја на срце, подаци су дискутабилни.

Неке студије које су истраживале функционални опоравак срца након исхемијско-реперфузионог протокола на траци нижег интензитета показале су побољшан опоравак у групи која је вежбала, док друге нису налазиле значајне ефекте (137). Дакле, директна веза између интензитета и дужине вежбања и заштите од инфаркта за сада је недовољно позната и остаје у фокусу будућих студија.

Савремена истраживања акценат стављају на механизме који објашњавају како вежбање покреће кардиопротективне одговоре. Активација аденозинских или опиоидних рецептора, пролазна производња реактивних кисеоничних радикала, активација аденозин монофосфат киназе (АМПК), и продукција одређених проинфламаторних цитокина су потенцијални кандидати који учествују у индукцији кардиопротекције вежбањем. Неколико студија наговештава да су поједини сигнални путеви укључени у иницијацију кардиопротекције изазване вежбањем. Блокада аденозинских рецептора елиминисала је кардиопротекцију изазвану епизодама интервалне тахикардије код паса који су били изложени пејсмејкер терапији (138), наговештавајући да ослобађање аденозина при високим срчаним фреквенцима индукује низ догађаја који доприносе ефикаснијем опоравку након исхемије. Механизам активације аденозинских рецептора је комплексан и састављен од више компоненти. Недавни рад (139) је открио да повећана активност миокардних антиоксидационих ензима пролази након тренажног циклуса када се тренинг изводи у присуству антагониста аденозинских рецептора. Ипак, у овој студији није испитан утицај И/Р повреде, и потребно је више истраживања како би се утврдило да ли аденозински рецептори покрећу кардиопротективну сигнализацију пратећи интервалне епизоде вежбања. Овај аспект је веома значајан, имајући у виду опсервације где је дуготрајна администрација аденозина изгубила ефикасност у прекондиционирању миокарда (140).

Осим тога, и опиоиди могу играти важну улогу у покретању кардиопротекције настале услед вежбања. Скорашња истраживања су открила да блокада опиоидних рецептора током тренинга супримира корисне ефекте који умањују оштећења настала

услед инфаркта (141). Ендогени опиоиди се могу ослободити из различитих ткива, укључујући срце, и апликација како опиоидних пептида тако и агониста опиоидних рецептора доводе до прекондиционарања срчаног ткива (141). Још једна од обећавајућих хипотеза је да активација аденозинских и/или опиоидних рецептора током вежбања доводи до кардиопротекције преко механизма који зависе од протеин киназе С (РКС). Сигнализација аденозинских и опиоидних рецептора се сустиче на нивоу РКС (142), и активација и/или транслокација изоформи РКС може изазвати низ адаптивних промена унутар миокарда. Експресија неколико изоформи РКС се мења у срцу након интервалног вежбања, а инхибиција РКС пре вежбања уклања ефекте кардиопротекције (142). Ипак, остаје нејасно који цитосолни протеини након РКС могу бити активирани током преткондиционарања вежбањем. Активација РКС-зависних heat shock протеина 70 може бити укључена у кардиопротекцију вежбањем (142), иако се чини да долази до активације сарколемалног АТР-зависног калијумовог канала. Будућа истраживања која разјашњавају даље мете РКС биће корисна за боље разумевање његове улоге у кардиопротекцији вежбањем.

Додатни механизми који посредују прекондиционарању вежбањем обухватају транзиторно ослобађање реактивних кисеоничних врста (ROS) током вежбања. Неколико студија су навестиле да ефекти кардиопротекције вежбањем, као и побољшање срчане функције после вежбања, нестају када се антиоксиданси примене током вежбања (143). Показано је да вежбање повећава активност миокардијалне NADPH оксидазе, те инхибиција дејства овог ензима, који је потентни извор ROS, уклања ефекте кардиопротекције настале услед вежбања (143). Могуће је да нагло ослобађање малих концентрација ROS подстиче антиоксидациони капацитет путем индукције експресије гена и синтезе протеина, што је концепт познат као хормеза и примењује се и на скелетне мишиће (143). Такође, ROS-зависна модулација ријанодинског рецептора, која смањује излазак калцијума из саркоплазматског ретикулума, може бити потенцијално нови механизам у прекондиционарању услед вежбања (143).

АМП-активирана протеин киназа (АМПК) представља још један потенцијални механизам у преткондиционарању срца вежбањем. АМПК је обично неактиван у срцу када је равнотежа између енергетске потрошње и захтева избалансирана, али се активира при променама метаболичких услова, као што су вежбање или исхемија. Истраживања су показала да фармаколошка активација АМПК може смањити величину инфаркта, слично као и вежбање (144). Активација АМПК у срцу може се постићи трчањем на траци, а изоформа АМПК-2 се овом приликом највише активира (95). Срце подлеже брзом прелазу на анаеробну гликолизу током исхемије, при чему се активација гликогенских складишта и сарколемалног транспорта глукозе одвија под утицајем АМПК. Верује се да АМПК стимулише кроишћење и оксидацију масти у реперфузији, што додатно подстиче снабдевање срца субстратима кроз повећану активност митохондрија. Активација АМПК након вежбања може деловати кардиопротективно путем повећања нивоа ћелијског АТП-а (144).

Улога цитокина у исхемијско/реперфузионој повреди остаје предмет спорова у научној литератури (145). Наиме, постоји неколико истраживања која сугеришу да цитокини, као што су TNF-алфа и IL-1, имају своје место у овим процесима. Тако је откривено да антитела усмерена према поменутиим цитокинима могу бити одговорна за губитак кардиопротективних ефеката након вежбања (145). Са друге стране, отварање сарколемских КАТР канала током исхемије чини се такође важним догађајем за заштиту миокарда од некрозе, с обзиром да блокирање ових канала током реперфузије не утиче на величину инфаркта (145). Ипак, већина аутора је сагласна да су кардиопротективни ефекти посредовани КАТР каналима орочени на кратак временски период (145).

Још један од битних чинилаца кардиопротекције изазване вежбањем је адаптација кардиомиоцитних митохондрија. Занимљиво је да субсарколемална популација митохондрија изгледа подлеже озбиљнијим модификација у односу на интерфибриларну популација митохондрија (146). Иако је потребно више података да би се разумело како измене у митохондријском протеому воде до ублажавања последица исхемије, претпоставља се да вежбање изазива промене у митохондријама које им омогућавају да се успешније одупиру апоптозним стимулусима (146). На овај начин кроз адаптације стимулисане вежбањем митохондрије могу ефикасније да одрже задовољавајући степен производње АТП-а током И/Р (146).

У нашој студији смо потврдили значајне разлике између трчања и пливања у погледу ефеката на промену контрактилности миокарда након дужег периода (8 недеља) прекондиционирања. За генералну процену срчане контрактилности користили смо максималну стопу промене притиска у левој комори - $dp/dt \max$ (као индикатора максималне снаге контракције односно инотропних својстава срца) и минималну стопу промене притиска леве коморе - $dp/dt \min$ (као индикатора максималне снаге релаксације односно луситропних својстава срца). И поред одређених разлика између група које су пливале и контролне групе у свим тачкама реперфузије, генерално анализирајући добијене резултате, на крају реперфузије може се запазити да тренинг пливања није био повезан са унапређењем снаге контракције у односу на седатерне животиње. У погледу компарације између два типа тренажних интензитета уочава се да је аеробно пливање довело до снажнијег опоравка контрактилне силе у односу на анаеробни вид ове активности.

Са друге стране, исти параметар је током реперфузије у групама које су трчале имао сличну динамику промена током реперфузије да би на крају периода праћења постало очигледно да је анаеробно трчање умањило контрактилну силу миокарда пацова. За разлику од тога, аеробно трчање је узроковало највиши скок вредности овог параметра у односу на три компарираних групе. Минимална стопа промене притиска у левој комори је била значајно унапређена након оба типа пливања, при чему је на крају реперфузионог периода повољнији тренд опоравка забележен у групи која је пливала у аеробној зони. За разлику од тога, у групама пацова које су трчале уочава се знатно слабији опоравак овог параметра након анаеробног трчања у односу на остале две групе. Лошији опоравак у поређењу са седатерним пацовима показује да овај тип тренажног протокола може чак имати и штетан ефекат када је реч о опоравку релаксантне функције срца пацова. Супротно томе, аеробно трчање је показало још једном своју супериорност односно узроковало је изразито побољшање рада срца током релаксације комора.

Систолни притисак у левој комори (SLVP) зависи од њених контрактилних и релаксантних способности и надовезује и употпуњује тумачење претходних индикатора контрактилности. Анализом добијених налаза се јасно уочава да су оба типа пливања била повезана са бољом систолном функцијом леве коморе, која је остварила најизраженији опоравак након анаеробног пливања. Када је реч о тренингу трчања, као и у претходним случајевима аеробни тип овог тренинга је довео до највиших реперфузионих вредности систолне функције срца пацова.

Дијастолни притисак леве коморе (DLVP) је био унапређен након оба типа тренажног протокола (пливања и трчања), при чему су највише вредности овог параметра забележене након анаеробних типова примењеног вежбања.

Резултати срчане фреквенце (HR) су интересанти за тумачење али и очекивани са становишта досадашњих сазнања. Наиме, оба типа тренажних протокола и аеробног и анаеробног типа била су повезана са нижим вредностима срчане фреквенце у опоравку у односу на седатерне пацове, што је било нарочито уочљиво у случају групе

која пливала. Ови налази су последица физиолошке адаптације фреквенце срца на физички напор односно могу се посматрати као брадикардија узрокована структурисаном физичком активношћу. Са аспекта значаја за ову студију, важно је напоменути да иако спорија, фреквенца срца је остала у вредностима референтног ранга за пацове, те је и ово позитиван утицај тренажних активности.

Готово идентичну динамику можемо уочити и приликом анализе резултата коронарног протока (CF), будући да су и тренинг пливања и тренинг трчања (аеробног и анаеробног типа) довела до слабије перфузије срца у односу на контролну групу. Смањење перфузије срца у оба случаја је било израженије након тренинга у аеробној зони.

Сумарно анализирано, резултати кардиодинамике изолованог срца пацова генерално показују да је тренинг био повезан са бољим опоравком већине кардиодинамских показатеља при чему се добијени ефекти били најизраженији након тренинга у аеробној зони, поготово у случају аеробног трчања. Међутим, остварени позитивни ефекти тренинга су изгледа били усмерени само на кардиомиоците (ткиво миокарда) али не и на коронарну циркулацију (ендотелне и глатке мишићне ћелије). Практични значај добијених резултата се огледа у бољем разумевању ефеката различитих типова тренинга аеробног и анаеробног интензитета као нефармаколошких видова прекондиционарања миокарда. На овај начин се може добити изванредна база са дизазирање студије на људима из ове проблематике. У практичном смислу, интерполација добијених резултата у клиничке услове индикује да аеробно трчање може бити најефикаснији вид прекондиционарања миокарда од будућих исхемијско/реперфузионих догађаја.

Разлике у ефектима анаеробне и аеробне активности у нашим резултатима могу се објаснити добро познатом чињеницом да се у ћелији аеробно дисање дешава унутар митохондрија, а анаеробно дисање у цитоплазми ћелије (147, 148). Ови докази су такође у складу са претходним студијама које су испитивале хипертрофију срца изазвану физичком активношћу. После једног века експерименталних и клиничких истраживања, хипертрофија срца изазвана вежбањем се посматра као последица тренинга (149-151). Баптиста и сарадници су процењивали ефекте трчања на траци и пливања код пацова (152). Њихова студија је спроведена да би се проценили утицаји два различита протокола умереног/дуготрајног аеробног тренинга трчања и пливања, на неколико важних параметара везаних за кардиоваскуларне физиолошке адаптације, као што су: липидни профил, липидна пероксидација, модулација периферног серотонергичког система (СС) и активација симпатичког нервног система (СНС). Показано је да је трчање имало већи утицај од пливања на периферну модулацију серотонергичког система, док је пливање било важније на активацију симпатичког нервног система (152). Слично овим закључцима, наши резултати су потврдили да трчање изазива интензивније побољшање контрактилности срца у поређењу са пливањем исте дужине трајања.

Механизам за изазивање ових адаптација остаје непознат, али се може објаснити ефектима хипоксичне средине током тренинга пливањем (151, 152). Насупрот томе, програми интензивног трчања и издржљивости који укључују глодаре (као и друге врсте) сугеришу релативно мале промене у биохемијским и функционалним особинама контрактилног система (152). Осим тога, велика предност овог модалитета је што вежбање захтева само минималну интервенцију истраживача, не захтева аверзивне стимулусе (нпр. струјни удари или ваздушни млазници) да мотивишу животиње да трче, али опет има недостатке у погледу тумачења на молекуларним нивоу. Други аспект ове студије се ослањао на поређење аеробне са анаеробном активношћу пливања и трчања на кардиоваскуларни систем пацова. Још увек је нејасно који тип модалитета

у анималним моделима и клиничкој пракси може побољшати физиолошке механизме вежбања и побољшати кардиоваскуларно здравље.

Слично аеробном тренингу, и анаеробне вежбе могу имати потенцијално повољан утицај на кардиоваскуларни систем. У погледу молекуларног механизма, натриуретски пептид Ц-типа има важну улогу у анаеробним активностима и он се синтетише од стране ендотела и пружа заштитни ефекат кроз своје ефекте на васкуларни тонус крвних судова, као и антифибротичка и антипролиферативна својства. Овај молекул производи хиперполаризациони ефекат на слој глатких мишића крвних судова, што изазива вазодилатацију. Такође је пријављено да овај пептид испољава своје непролиферативне ефекте на срчане фибробласте како би помогао у спречавању старења срца кроз фиброзу леве коморе путем цикличког гванозин монофосфата (сGMP) (153).

У другом делу истраживања, наш циљ је био да утврдимо улогу аеробног и анаеробног тренинга, као и разлике између тренинга трчањем и пливањем на редокс равнотежу пацова. Мерењем биомаркера оксидационог стреса у ефлуенту и плазми, као и одређивањем активности ензимских и не-ензимских компоненти система антиоксидационе заштите, добили смо комплетну слику о редокс равнотежи анималног модела по спроведеном експерименту. Већ деценијама уназад важно научно питање јесте веза између физичке активности и оксидационог стреса, у којој се још увек недовољно познаје смер повезаности.

Резултати маркера оксидационог стреса из коронарног венског ефлуента показују следеће: 1. Супероксид ањон радикал је био повишен након оба типа тренажних протокола, при чему је код оба типа тренинга ослобађање овог најтоксичнијег мереног про-оксиданса било веће приликом анаеробног интензитета тренажних активности. Ови налази се могу тумачити као очекиван резултат будући да се у већини литературних извора налази на податак да је вежбање у анаеробној зони повезано са већом продукцијом слободних радикала у односу на аеробну зону (154). 2. За разлику од тога, концентрација водоник пероксида је имала готово исту динамику и у групама које су трчале и у групама које су пливале – анаеробни интензитет тренажних протокола је довео до најниже продукције водоник пероксида. 3. Вредности нитрита су биле ниже у односу на контролну групу код свих група пацова подвргнутих тренингу, са тим што је аеробни вид тренинга био повезан са најмањим степеном ослобађања овог молекула. 4. Индекс липидне пероксидације се надовезује на претходне резултате и најчешће његов тренд прати налазе поменутих про-оксиданаса, што је био случај и овом приликом. Наиме, као индикатор липидних оштећења ћелијских мембрана услед појачане продукције наведених молекула, овај маркер је имао највеће вредности након анаеробног интензитета пливања и трчања, што се у потпуној сагласности са резултатима осталих оксидационих маркера из ефлуента.

Са друге стране, анализом резултата поменутих биомаркера оксидационог статуса из крви можемо извести наредна запажања: 1. Ослобађање супероксид ањон радикала је било веће након тренинга пливања у односу на тренинг трчања, при чему је најмања концентрација овог про-оксиданса било у групи која је трчала у анаеробној зони. 2. Готово иста разлика између група је забележена и у случају водоник пероксида и нитрита, са најнижим степеном њихове продукције у поменутој групи. 3. Супротно овим налазима, концентрација индекса липидне пероксидације је била највиша након трчања и то при анаеробном интензитету. Осим наведених реактивних врста у крви односно лизату еритроцита смо одређивали вредности антиоксидационих ензима заштите и уочили следеће: 1. Активност супероксид дизмутазе је била већа након свих типова тренажних протокола, са максимумом вредности у групи која је трчала у аеробној зони, што је у корелацији са претходно поменутих резултатима супероксид

анјон радикала, будући да супероксид дизмутаза има улогу у разградњи овог радикала. 2. Каталаза је имала сличан тренд разлике између група, поново са највећом активношћу у групи пацова која је трчала у аеробној зони. 3. Пливање је било повезано са сниженом активношћу редукованог глутатиона чак и у односу на седатерне животиње, док је његова највећа активности нотирана опет након аеробног трчања.

Сумарно анализирано, резултати биомаркера оксидационог стреса пацова генерално показују да са обе врсте тренинга биле повезане са повећаном продукцијом срчаних про-оксиданаса, при чему је анаеробни интензитет довео до највећег пораста њихове продукције. Тренажни протокол пливања је индуковао такође и највећи степен ослобађања мерених реактивних врста у крви пацова, са највишим вредностима након аеробног интензитета вежбања. Обе врсте тренажних активности су значајно подигле мобилизацију већег дела антиоксидационог система заштите у односу на седатерне животиње са највећим степеном активности након трчања у аеробној зони. Узевши у обзир ове анализе можемо закључити да аеробни тренинг трчања најповољније делује на одржавање срчане и системске редокс равнотеже код ових животиња што у молекуломском смислу може допринети најефикаснијем опоравку функције срца након исхемијско/реперфузионе повреде.

Неколико важних студија спроведених 1990-их открило је да тренинг издржљивости и/или интервални тренинг високог интензитета повећавају антиоксидациони капацитет и срчаних и скелетних мишићних ћелија (155). Тачније, ове студије су откриле да тренинг вежбањем повећава активност супероксид дизмутаза за 20%–110%. Слично томе, студије су такође откриле да редовно вежбање аеробног типа повећава концентрацију глутатион пероксидазе скелетних мишића за 20%–180% (155). Иако неколико студија објављених 1980-их и 1990-их сугерише да вежбање такође повећава активност каталазе, други извештаји нису успели да докажу повећање активности овог ензима изазвано вежбањем (154, 155).

Током претходне две деценије развијани су многи приступи за заштиту срца од исхемијско-реперфузионих повреда. Наиме, кардиопротекција (прекондиционирање) првобитно је описана као краткорочна адаптација срца на нелеталну исхемију (156). Данас је добро познато да се прекондиционирање састоји из две хронолошки и патофизиолошки различите фазе заштите: ране и касне (157, 158). Рана фаза настаје одмах након стимулуса и врло је потентна, али је и краткотрајна (траје само 2-3 сата) (4). Међутим, касна фаза прекондиционирања се развија у року од 12-24 сата након почетног стимулуса и може перзистирати неколико дана (159). У том погледу, идентификоване су различите процедуре и приступи за које се зна да доводе до кардиопротекције. Ови приступи укључују вежбање, исхемијско прекондиционирање, топлотни стрес, као и одређене фармаколошке интервенције (160).

Ипак, све је више доказа да различити типови тренажних протокола могу послужити као модели прекондиционирања са најмање штетних а највише позитивних страна у погледу кардиопротекције (161). Неколико анималних истраживања указује да тренинг издржљивости побољшава толеранцију миокарда на исхемијско-реперфузиону повреду и код младих, и код старих животиња оба пола (162, 163). Студије показују да вежбање превенира настанак срчаних аритмија, оксидационих оштећења, митохондријалне дисфункције и ћелијске смрти (164, 165). Занимљиво је да су неколицина истраживача показали да краткорочни тренинг (током 3-5 узастопних дана) обезбеђује исти ниво кардиопротекције као и онај који се примећује након дугорочног тренинга (дужи од 10 недеља) (166, 167).

Треба напоменути да медијатори одговорни за настанак кардиопротекције индуковане вежбањем још увек нису потпуно разјашњени. У литератури се наводи да најмање осам основних механизма доприносе кардиопротекцији која је стимулисана

вежбањем. Међутим, обиље података сугерише да повећана активност антиоксидационих ензима услед вежбања игра врло битну улогу у заштити миокарда од исхемијско-реферфузионих повреда (168, 169).

Документовано је да тренинг издржљивости побољшава толеранцију миокарда на исхемијско-реферфузионе повреде. У вези са тим, Bowles and Starnes (162) су објавили једно од првих истраживања на животињама које описује како тренинг издржљивости доводи до позитивних адаптација миокарда. Аутори су користили *ex vivo* модел срца и известили да су срца изолована из животиња која су била подвргнута тренингу издржљивости (5 дана недељно током 11-16 недеља) имала бољи опоравак срчане функције након опште исхемије у поређењу са срцима изолованим из седентарних животиња (162). Крајем 1990-их година, Powers и сарадници (170) су спровели истраживање на животињама са исхемијско-реферфузионим протоколом *in vivo* и показали да тренинг издржљивости обезбеђује кардиопротекцију. У овом истраживању животиње су тренирале 4 дана недељно током 10 недеља на тредмил траци (170). Након тренинга, животиње су изложене *in vivo* исхемијско-реферфузионим протоколу и резултати су показали да дугорочни тренинг издржљивости доводи до побољшане функције миокарда током исхемије и реферфузије (170). Занимљиво је да истраживања из 1990-их година наговештавају да су чак и 3-5 узастопних дана тренинга издржљивости довољни за стварање кардиопротективног фенотипа. Једно од ових истраживања је упоредило животиње из три групе: (1) контролна, (2) група која је имала три узастопна дана вежбања на траци од по 60 минута на дан, и (3) пет узастопних дана вежбања на траци од по 60 минута на дан (165). Срца из све три групе су била подвргнута *in vivo* исхемијско-реферфузионим протоколу. Резултати су показали да су у поређењу са неутренираном контролном групом, животиње које су вежбале из обе групе имале веће вредности притиска леве коморе и контрактилних параметара у свим временским периодима током исхемије и реперфузије (165). Штавише, и други истраживачи су такође известили да краткорочни тренинг издржљивости може имати повољан утицај у виду протективног ефекта на миокард током исхемије и реперфузије (171).

Тренинг протоколи ниског интензитета су се показали ефикасним у смањивању кардиоваскуларних фактора ризика за срчане болести код људи и животиња. Међутим, до скоро се није знало да ли су тренинг протоколи ниског интензитета довољни да побољшају већ постојећу толеранцију миокарда на исхемијско-реферфузионе повреде. Како би се овај проблем истражио, Starnes и сарадници (172) су иситивали утицај интензитета вежбања приликом индукције кардиопротекције у случају исхемијског догађаја. Starnes и сарадници (172) су вежбали пацове на тредмил траци при интензитету од 55-60% максималне потрошње кисеоника, 40 минута на дан, 5 дана недељно током 16 недеља. Затим су срца изолована ацова и подвргнута исхемијско-реперфузионим протоколу. Изненађујуће, резултати студије су показали да је поменути тренажни протокол био недовољан за индуковање интринзичне кардиопротекције (172).

У студији Lennon и сарадника (173) пацови су били подвргнути средњем интензитету трчања (60 минута при 55% максималне потрошње кисеоника) или високом интензитету трчања (60 минута при 75% максималне потрошње кисеоника) на тредмил траци. Затим су срца изолована и подвргнута *ex vivo* исхемијско-реперфузионим протоколу. Резултати су показали да су животиње које су биле подвргнуте тренингу средњег и високог интензитета имале значајно више вредности параметара срчане функције у поређењу са седентарном групом животиња. Такође, нису постојале разлике у проценту опоравка параметара срчаног рада између два протокола трчања. На основу ових резултата, аутори су закључили да и тренинг средњег и високог интензитета обезбеђују еквивалентну заштиту против исхемијско-

реферфузионих повреда (173). У погледу компарације између поменутих истраживања треба напоменути да је у студији Starnes и сарадника вежбање трајало 40 минута док су код Lennon-а и коаутора животиње вежбале 60 минута. Стога изгледа да и трајање вежбања и његов интензитет имају важну улогу у постизању кардиопротективног фенотипа.

Као што смо већ истакли, обиље података указује да тренинг издржљивости остварују кардиопротективни ефекат. Међутим, до недавно није било познато колико дуго срце задржава ову кардиопротективну адаптацију након престанка тренинга. Да би истражили евентуални губитак кардиопротекције након престанка вежбања, Lennon и сарадници (174) су распоредили пацове у једну од пет група: (1) седентерна контрола, (2) тренинг праћен једним даном одмора, (3) тренинг праћен са три дана одмора, (4) тренинг праћен са девет дана одмора и (5) тренинг праћен са осамнаест дана одмора. Аутори су користили модел изолованог срца и известили су да је кардиопротекција индукована вежбањем спречавала настанак функционалних поремећаја миокарда бар девет дана након престанка вежбања. Ипак, постигнути кардиопротективни ефекти су се изгубили осамнаест дана након вежбања (174).

Поменути аутори су такође истраживали неколико потенцијалних механизма одговорних за настанак кардиопротекције. Конкретно, нотирано је да су и heat shock протеин 72 (HSP72) и каталаза били повећани 1. и 3. дана након престанка вежбања, али су се вратили на почетне вредности 9. дана након престанка вежбања. Стога је закључено да је кардиопротективни ефекат вежбања перзистирао и у одсуству повишених миокардијалних нивоа HSP72 и каталазе 9 дана након вежбања (174). Осим тога, аутори су навели да су у спречавању настанка поремећаја миокарда услед исхемијско-реперфузионе повреде укључени и други механизми поред повећане активности HSP72 и каталазе (174).

Са друге стране, редовни тренинзи издржљивости повољно утичу на кардиоваскуларни систем, а епидемиолошке студије показују да је вежбање повезано са смањеним ризиком од настанка коронарне болести срца и смртности услед кардиоваскуларних обољења (175). Ово смањење ризика је последица како унутрашњих, тако и спољашњих промена на срцу. Спољашње промене које се примећују код људи и на анималним моделима су нервне, хормоналне, хуморалне, васкуларне и доводе до редуције телесних масти (176). Вежбањем се може модификовати неколико кардиоваскуларних фактора ризика (нпр. хипертензија, дијабетес мелитус, гојазност, метаболизам липопотеина, ризик од тромбозе и дисфункција ендотела). Услед тога је могуће да се конекција између вежбања и смањене кардиоваскуларне смртности базира на једном или више од ових фактора ризика (177-179). Осим тога, физичка активност има позитиван ефекат на метаболизам глукозе и инсулинску резистенцију (180).

Молекулски механизми одговорни за кардиопротекцију изазвану вежбањем до сада нису довољно истражени и познати. Према доступним литературним изворима, можемо увидети да постоји барем осам примарних механизма који су укључени у кардиопротективне ефекте вежбања. Укратко, студије су се фокусирале на промене у анатомији коронарних артерија, индукцију миокардних heat shock протеина, повећану активност миокардне циклооксигеназе-2, повећану активност стрес протеина ендоплазматског ретикулума, производњу азот монооксида, побољшану функцију сарколемских и/или митохондријских АТФ-осетљивих калијумових канала и повећану антиоксидациону способност миокарда. Ипак, ови механизми су само претпостављени и често оспоравани у различитим истраживањима. Тако, објављени резултати показују да се краткорочним вежбањем не постиже значајан развој колатералних коронарних артерија (181). Такође, тренинг издржљивости не доводи до повећања активности

циклооксигеназе-2 или стрес протеина ендоплазматског ретикулума у миокарду пацова (182). Са друге стране, чини се да азот моноксид игра двоструку улогу у кардиопротекцији - и као покретач и као медијатор (183). Иако неколико студија показује да повећана расположивост азот монооксида делује кардиопротективно, само су се две студије бавиле испитивањем тачног доприноса азот монооксида кардиопротекцији изазваној вежбањем. Резултати из ове две студије су контрадикторни.

Vabai и сарадници су применом *in vivo* исхемијско-реперфузионог протокола дошли до закључка да вежбање повећава активност индуцибилне азот моноксид синтазе, што је можда допринело смањењу озбиљности аритмија које су се појавиле ускоро након настанка исхемије. Међутим, ефекти кардиопротекције изазване вежбањем су потом били спречени применом инхибитора азот монооксида. Стога су аутори закључили да је кардиопротекција изазвана вежбањем посредована азот моноксидом (184). Међутим, Taylor и коаутори (185) су користили *ex vivo* модел срца и известили да вежбање доводи до кардиопротекције, чак и када је производња азот монооксида блокирана. Аутори су закључили да повећана производња азот монооксида није неопходна за кардиопротекцију изазвану вежбањем (185). Налази из ове две студије указују на то да повећана производња азот монооксида можда не доводи до директне заштите кардиомиоцита, али већа расположивост азот монооксида у васкулатури може бити важан фактор који може бити важна за кардиопротекцију. Битно је нагласити процедуралне разлике између ове две студије. Конкретно, ове студије су користиле другачије моделе исхемије и реперфузије. Такође, различите врсте животиња које су коришћене могу бити разлог за контрадикторне податке између студија. На пример, Vabai и сарадници су користили *in vivo* модел исхемије и реперфузије код паса, док су Taylor и сарадници (185) користили *ex vivo* модел исхемије и реперфузије код пацова. Због свега овога потребно је додатно истраживање у овом подручју како би се потпуно разјаснила улога азот монооксида у кардиопротекцији изазваној вежбањем.

За сарколемалне и/или митохондријске АТП-осетљиве калијумове канале се претпоставља да су важни посредници у кардиопротекцији изазваној вежбањем. Конкретно, поједине студије су доказале да тренинг издржљивости повећава експресију сарколемалних АТП-осетљивих калијумових канала у кардиомиоцитима и да фармаколошка блокада ових канала у срцу омета кардиопротекцију. Још једно интересантно откриће је да женке животиња имају већу густину сарколемалних АТП-осетљивих калијумових канала у односу на мушке животиње (186). Важно је истаћи да су студије показале да естроген може повећати експресију сарколемалних АТП-осетљивих калијумових канала (187). Тако је показано да је разлика у кардиопротекцији у односу на пол посредована управо већом експресијом сарколемалних АТП-осетљивих калијумових канала. Осим тога, друга истраживања су указала да митохондријски АТП-осетљиви калијумови канали нису битан посредник у кардиопротекцији изазваној вежбањем (187). Међутим, Domenich и сарадници (188) су показали да се рани ефекат кардиопротекције изазване вежбањем остварује преко митохондријских АТП-осетљивих калијумових канала. Важно је напоменути да молекуларни идентитет митохондријских АТП-осетљивих калијумових канала остаје предмет дебате. Стога су студије које испитују ефекат митохондријских АТП-осетљивих калијумових канала користиле 5-хидроксидеканоичну киселину као специфични инхибитор митохондријских АТП-осетљивих калијумових канала. Међутим, неколико истраживача су поставили питање о специфичности ове супстанце и изразили забринутост у погледу исправности закључака извучених из ових студија (189). Ово је још један пример где су потребна додатна истраживања користећи различите молекуларне, ћелијске и биохемијске технике пре него што се могу донети дефинитивни закључци.

Истраживачи претпостављају да би користи које вежбање пружа срцу могле бити барем делимично последица смањења производње прооксиданаса и повећања капацитета срчаних антиоксиданаса. Обе адаптације могу смањити оштећење изазвано исхемијом и реферицијом (190). Повећана активност антиоксиданаса у миокарду или употреба митохондријски усмерених антиоксиданаса минимизира инфаркт миокарда изазван исхемијом и реферицијом (190). Осим тога, истраживања су показала да дијететски додатак антиоксиданаса смањује оксидативне повреде изазване исхемијом и реферицијом миокарда и величину инфаркта код пацова (191). Најубедљивији доказ за кардиопротекцију изазвану вежбањем јесте чињеница да вежбање повећава експресију антиоксидантних ензима за које је показано да су промотери кардиопротекције (192). У том смислу, како краткорочно тако и дугорочно вежбање повећава капацитет срчаних антиоксиданаса, који је суштински за постизање кардиопротекције изазване вежбањем (192). Важно је напоменути да подаци показују да је повећана антиоксидативна активност од суштинске важности за заштиту од миокардне некрозе и апоптозе (190-192).

Кардиомиоцити садрже мрежу антиоксидационих система који пружају заштиту од повреда изазваних реактивним кисеоничним врстама. Основни ензимски антиоксидационе одбране укључују супероксид дизмутазу (SOD), глутатион пероксидазу и каталазу. Важно је напоменути да сваки од ових антиоксиданаса може реаговати с реактивним кисеоничним врстама како би створио мање реактивне врсте. SOD постоји у две изоформе (нпр. манган супероксид дизмутаза (MnSOD) и бакар-цинк супероксид дизмутаза (CuZnSOD)). Оба изоформа SOD-а промовишу дисмутацију супероксид радикала како би створили водоник пероксид и кисеоник. Такође, каталаза може пружити заштиту од оксидативних повреда претварањем водоник пероксида у воду и кисеоник. Исто тако, глутатион пероксидаза користи редуковани глутатион као редукујући еквивалент за смањење водоник пероксида како би створила оксидовани глутатион и воду (192).

Неколико истраживача је проучавало ефекте тренинга издржљивости на ендogene антиоксидационе ензиме. Ова истраживања откривају да тренинг издржљивости резултује повећаним капацитетом срчаних антиоксиданаса. Међутим, неки истраживачи су известили да није било промена или чак да је дошло до смањења антиоксидационих ензима након тренинга издржљивости. Нејасност у овим резултатима може бити след последица различитих фактора, укључујући методолошке разлике у испитивању активности антиоксиданаса, варијације у протоколу тренинга или неправилно обрађивање ткива. Поједина истраживања закључују да је повећана активност MnSOD неопходна за остваривање оптималне кардиопротекције изазване (193). Стога, на основу ових извештаја могуће је да су механизми одговорни за кардиопротекцију изазвану вежбањем различити од механизма одговорним за заштиту срца од аритмија и инфаркта. Додатна истраживања су неопходна да би се утврдиле разлике између различитих нивоа повреда миокарда.

Осим примарних антиоксидационих ензима, срчане ћелије поседују и друге антиоксидационе системе (нпр. тиоредоксин, глутаредоксин и пероксиредоксин). Тиоредоксин антиоксидациони систем састоји се од тиоредоксина и тиоредоксин редуктазе док је глутаредоксин тиодисулфид оксидоредуктаза која учествује у заштити и поправци протеина и непротеинских тиола током периода оксидационог стреса (194).

Додатно, пероксиредоксин учествује у смањењу и хидропероксида и пероксинитрата користећи електроне који се обезбеђују физиолошким тиоловима као што је тиоредоксин. Стога, срчани миоцити садрже комплексан антиоксидациони систем. Међутим, ефекти вежбања на тиоредоксин, глутаредоксин и пероксиредоксин антиоксидантске системе у миокарду остају непознати. Ово је интересантно поље за

будући рад, јер је могуће да измене изазване вежбањем у једном или свим овим антиоксидационим системима могу допринети кардиопротекцији изазваној вежбањем (194).

Истраживања изведена од стране различитих лабораторија указују на критичну улогу митохондрија у срцу током исхемије и реперфузије. Конкретно, неколико лабораторија је известило да тренинг издржљивости резултује адаптацијама срчаних митохондрија које воде до смањене продукције реактивних кисеоничних врста (195). На пример, поједини аутори су известили да тренинг издржљивости смањује продукцију реактивних кисеоничних врста у митохондријама миокарда, што може резултирати мањим уласком калцијума при реперфузији. Слично томе, друга студија је показала да су митохондрије изоловане из тренираних срца отпорније на рад митохондријалних пермеабилних канала. Осим смањења производње реактивних кисеоничних врста изазване вежбањем, чини се да се дешавају и друге адаптације срчаних митохондрија узроковане вежбањем (195).

Недавно истраживање показало је да тренинг издржљивости изазива митохондријски фенотип који штити од апоптоличких стимулуса (196). Тачније, добијени подаци показују да обе субсарколемалне и интермиофибриларне срчане митохондрије подлежу биохемијским адаптацијама у одговору на тренинг издржљивости које воде до смањене осетљивости на апоптозу. Важно је нагласити да подаци показују да и интермиофибриларне и субсарколемалне митохондрије имају нижу максималну брзину отварања пора (V_{max}) након тренинга издржљивости у поређењу са нетренираним животињама. Такође, тренинг издржљивости резултује смањеним ослобађањем цитохрома с из изолованих срчаних митохондрија. Ови резултати откривају да тренинг издржљивости подстиче биохемијске измене у субсарколемалним и интермиофибриларним срчаним митохондријама, што води до фенотипа који одолева апоптоличким стимулусима. Ови резултати су такође у складу са концептом да митохондријске адаптације изазване вежбањем доприносе кардиопротекцији (196).

Моноамин оксидазе су митохондријски ензими укључени у оксидациону деаминацију биогених амина. Тачније, МАО-А катализује оксидациону деаминацију неколико моноамина (нпр. серотонин, норадреналин и допамин), што резултује продукцијом реактивних кисеоничних врста (197). Такође, неколико истраживача је известило о повећању активности срчане МАО-А са старашћу (197). Важно је нагласити да се нивои МАО-А протеина и производња реактивних кисеоничних врста зависних од МАО-А значајно повећавају у срцу старијих животиња (197). Поједина истраживања су показала да су нивои МАО-А протеина значајно смањени у срчаним митохондријама након тренинга издржљивости. С обзиром на ове резултате, могуће је да је смањење експресије МАО-А протеина након тренинга издржљивости један од механизма кардиопротекције изазване вежбањем.

VI
ЗАКЉУЧЦИ

6. ЗАКЉУЧЦИ

Полазећи од резултата овог истраживања, можемо конструисати следеће закључке:

1. Генерално анализирано, резултати кардиодинамике изолованог срца пацова показују да су обе врсте тренажних активности само при аеробним интензитетима довеле до ефикаснијег опоравка већине кардиодинамских показатеља, док у анаеробним зонама нису успеле да остваре боље ефекте у односу на седатерне пацове.
2. У погледу компарације између типа тренинга, може се закључити да је трчање било повезано са израженијим позитивним ефектима у односу на пливање.
3. Међутим, остварени корисни ефекти тренинга су изгледа били усмерени само на кардиомиоците (ткиво миокарда) али не и на коронарну циркулацију (ендотелне и глатке мишићне ћелије), будући да промена у перфузији срца након оба типа тренинга није било.
4. Резултати биомаркера оксидационог стреса из срца пацова генерално показују да су обе врсте тренинга биле повезане са повећаном продукцијом срчаних про-оксиданаса, при чему је анаеробни интензитет довео до највећег пораста њихове продукције.
5. Тренажни протокол пливања је индуковао такође и највећи степен ослобађања мерених реактивних врста у крви пацова, са највишим вредностима након аеробног интензитета вежбања.
6. Обе врсте тренажних активности су значајно подигле мобилизацију већег дела антиоксидационог система заштите у односу на седатерне животиње са највећим степеном активности након трчања у аеробној зони.
7. Узевши у обзир ове анализе можемо закључити да аеробни тренинг трчања најповољније делује на одржавање срчане и системске редокс равнотеже код ових животиња што у молекулском смислу може допринети најефикаснијем опоравку функције срца након исхемијско/реперфузионе повреде.
8. Шири значај добијених резултата се огледа у бољем разумевању ефеката различитих типова тренинга аеробног и анаеробног интензитета као нефармаколошких видова прекондиционарања миокарда. На овај начин се може добити изванредна база са дизанирање студија на људима из ове проблематике. У практичном смислу, интерполација добијених резултата у клиничке услове индикује да аеробно трчање може бити најефикаснији вид прекондиционарања миокарда од будућих исхемијско/реперфузионих догађаја.

VII

ЛИТЕРАТУРА

7. ЛІТЕРАТУРА

1. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, et al. Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2017; 135:e146-603.
2. Paffenbarger RS Jr, Hyde RT, Wing AL, Hsieh CC. Physical activity, all-cause mortality, and longevity of college alumni. *N Engl J Med*. 1986;314:605–13.
3. Moholdt T, Lavie CJ, Nauman J. Sustained physical activity, not weight loss, associated with improved survival in coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71:1094-101.
4. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep*. 1985; 100:126-31.
5. Fuster V, Gotto AM, Libby P, Loscalzo J, McGill HC. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task Force 1. Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. *J Am Coll Cardiol*. 1996; 27:964-76.
6. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med*. 2002;347:1483–92.
7. Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Munster study. *Am J Cardiol*. 1992;70:733–7.
8. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2012;367:2089–99.
9. Group HTC, Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, et al. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *N Engl J Med*. 2014;371:203–12.
10. Hambrecht R, Adams V, Erbs S, Linke A, Krankel N, Shu Y, et al. Regular physical activity improves endothelial function in patients with coronary artery disease by increasing phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*. 2003;107:3152–8.
11. Laufs U, Wassmann S, Czech T, Munzel T, Eisenhauer M, Bohm M, et al. Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:809-14.
12. Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2000;106:453–8.
13. Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RP. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest*. 2003; 33:1051–69.
14. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 2002; 287:2570–81.
15. Wang CC, Gurevich I, Draznin B. Insulin affects vascular smooth muscle cell phenotype and migration via distinct signaling pathways. *Diabetes* 2003; 52:2562-9.
16. Koivisto VA, Yki-Jarvinen H, DeFronzo RA. Physical training and insulin sensitivity. *Diabetes Metab Rev*. 1986;1:445–81.
17. Zheng C, Liu Z. Vascular function, insulin action, and exercise: an intricate interplay. *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26:297–304.

18. Olver TD, McDonald MW, Klakotskaia D, Richardson RA, Jasperse JL, Melling CWJ, et al. A chronic physical activity treatment in obese rats normalizes the contributions of ET-1 and NO to insulin-mediated posterior cerebral artery vasodilation. *J Appl Physiol*. 2017; 122:1040–50.
19. Kirwan JP, del Aguila LF, Hernandez JM, Williamson DL, O’Gorman DJ, Lewis R, et al. Regular exercise enhances insulin activation of IRS1-associated PI3-kinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2000; 88:797–803.
20. Goodyear LJ, King PA, Hirshman MF, Thompson CM, Horton ED, Horton ES. Contractile activity increases plasma membrane glucose transporters in absence of insulin. *Am J Physiol*. 1990; 258(4 Pt 1):E667–72.
21. Hardy ST, Loehr LR, Butler KR, Chakladar S, Chang PP, Folsom AR, et al. Reducing the blood pressure-related burden of cardiovascular disease: impact of achievable improvements in blood pressure prevention and control. *J Am Heart Assoc*. 2015:e002276.
22. Bacon SL, Sherwood A, Hinderliter A, Blumenthal JA. Effects of exercise, diet and weight loss on high blood pressure. *Sports Med*. 2004;34:307-16.
23. Kuru O, Senturk UK, Kocer G, Ozdem S, Baskurt OK, Cetin A, et al. Effect of exercise training on resistance arteries in rats with chronic NOS inhibition. *J Appl Physiol*. 2009;107:896-902.
24. Carter JR, Ray CA. Sympathetic neural adaptations to exercise training in humans. *Auton Neurosci*. 2015;188:36-43.
25. Riehle C, Wende AR, Zhu Y, Oliveira KJ, Pereira RO, Jaishy BP, et al. Insulin receptor substrates are essential for the bioenergetic and hypertrophic response of the heart to exercise training. *Mol Cell Biol*. 2014;34:3450-60.
26. Bostrom P, Mann N, Wu J, Quintero PA, Plovie ER, Panakova D, et al. C/EBPbeta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell* 2010;143:1072-83.
27. Bezzerides VJ, Platt C, Lerchenmuller C, Paruchuri K, Oh NL, Xiao C, et al. CITED4 induces physiologic hypertrophy and promotes functional recovery after ischemic injury. *JCI Insight*. 2016;1:e85904.
28. Natali AJ, Wilson LA, Peckham M, Turner DL, Harrison SM, White E. Different regional effects of voluntary exercise on the mechanical and electrical properties of rat ventricular myocytes. *J Physiol*. 2002; 541(Pt 3):863-75.
29. Diffie GM, Chung E. Altered single cell force-velocity and power properties in exercise-trained rat myocardium. *J Appl Physiol*. 2003;94:1941-8.
30. Yang KC, Tseng YT, Nerbonne JM. Exercise training and PI3Kalpha-induced electrical remodeling is independent of cellular hypertrophy and Akt signaling. *J Mol Cell Cardiol*. 2012; 53:532-41.
31. Mairbaurl H. Red blood cells in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells. *Front Physiol*. 2013;4:332.
32. Bonsignore MR, Morici G, Santoro A, Pagano M, Cascio L, Bonanno A, et al. Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. *J Appl Physiol*. 2002; 93:1691-7.
33. Ribeiro F, Ribeiro IP, Goncalves AC, Alves AJ, Melo E, Fernandes R, et al. Effects of resistance exercise on endothelial progenitor cell mobilization in women. *Sci Rep*. 2017; 7:17880.
34. Barnard RJ, Duncan HW, Baldwin KM, Grimditch G, Buckberg GD. Effects of intensive exercise training on myocardial performance and coronary blood flow. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. 1980; 49:444-9.

35. Robinson AT, Franklin NC, Norkeviciute E, Bian JT, Babana JC, Szczurek MR, et al. Improved arterial flow-mediated dilation after exertion involves hydrogen peroxide in overweight and obese adults following aerobic exercise training. *J Hypertens.* 2016;34:1309-16.
36. Tremblay MS, Warburton DER, Janssen I, Paterson DH, Latimer AE, Rhodes RE, et al. (2011). New Canadian physical activity guidelines. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2011;36:36-46.
37. Wen CP, Wai JPM, Tsai MK, Yang YC, Cheng TYD, Lee MC, et al. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. *Lancet.* 2011; 378:1244-53.
38. Jamnick NA, Pettitt RW, Granata C, Pyne DB, and Bishop DJ. An examination and critique of current methods to determine exercise intensity. *Sports Med.*2020;50:1729-56.
39. Caspersen CJ, Powell KE, and Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* 1985;100:126-31.
40. Daussin FN, Zoll J, Dufour SP, Ponsot E, Lonsdorfer-Wolf E, Doutreleau S, et al. Effect of interval versus continuous training on cardiorespiratory and mitochondrial functions: relationship to aerobic performance improvements in sedentary subjects. *Am. J. Phys. Regul. Integr. Comp. Phys.* 2008;295:R264-R72.
41. Baron B, Noakes TD, Deckerle J, Moullan F, Robin S, Matran R, et al. Why does exercise terminate at the maximal lactate steady state intensity? *Br. J. Sports Med.* 2008; 42:828.
42. Bishop D, Jenkins DG, and Mackinnon LT. The relationship between plasma lactate parameters, WPeak and 1-h cycling performance in women. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1998;30:1270-5.
43. Svedahl K, and MacIntosh BR. Anaerobic threshold: the concept and methods of measurement. *Can. J. Appl. Physiol.* 2003;28:299-323.
44. Iannetta D, Keir DA, Fontana FY, Inglis EC, Mattu AT, Paterson DH, et al. Evaluating the accuracy of using fixed ranges of METs to categorize exertional intensity in a heterogeneous group of healthy individuals: implications for cardiorespiratory fitness and health outcomes. *Sports Med.* 2021. doi: 10.1007/s40279-021-01476-z
45. Iannetta D, Inglis EC, Mattu AT, Fontana FY, Pogliaghi S, Keir DA, et al. A critical evaluation of current methods for exercise prescription in women and men. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2020;52:466-73.
46. Hoogeveen AR, Hoogsteen J, and Schep G. The maximal lactate steady state in elite endurance athletes. *Jpn. J. Physiol.* 1997;47:481-5.
47. Creemers N, Foster C, Porcari JP, Cress ML, De Koning JJ. The physiological mechanism behind the talk test. *Kinesiology.*2017; 49:3-8.
48. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med* 2016;4(13):256.
49. Boulghobra D, Coste F, Geny B, Reboul C. Exercise training protects the heart against ischemia-reperfusion injury: A central role for mitochondria? *Free Radic Biol Med* 2020;152:395-410.
50. Wu MY, Yiang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, Cheng PW, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem* 2018; 46(4):1650-67.
51. Li WA, Ding Y. Cardiac preconditioning and cardiovascular diseases. *Heart Mind* 2017; 1: 17-21.

52. Thijssen DHJ, Redington A, George KP, Hopman MTE, Jones H. Association of Exercise Preconditioning With Immediate Cardioprotection: A Review. *JAMA Cardiol* 2018; 3: 169-76.
53. Simonovic N, Jakovljevic V, Jeremic J, Finderle Z, Srejovic I, Nikolic Turnic T, et al. Comparative effects of calcium and potassium channel modulators on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *Mol Cell Biochem* 2019;450:175-85.
54. Nogueira-Ferreira R, Moreira-Gonçalves D, Silva AF, Duarte JA, Leite-Moreira A, Ferreira R, et al. Exercise preconditioning prevents MCT-induced right ventricle remodeling through the regulation of TNF superfamily cytokines. *Int J Cardiol* 2016; 203:858-66.
55. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007;357: 1121-35.
56. Ovize M, Baxter GF, Di Lisa F, Ferdinandy P, Garcia Dorado D, Hausenloy DJ, et al. Working Group of Cellular Biology of Heart of European Society of Cardiology. Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? Position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 2010;87:406-23.
57. Kleinbongard P, Heusch G. Extracellular signalling molecules in the ischaemic/reperfused heart - druggable and translatable for cardioprotection? *Br J Pharmacol* 2015;172:2010-25.
58. Goto M, Liu Y, Yang XM, Ardell JL, Cohen MV, Downey JM. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts. *Circ Res* 1995; 77: 611-21.
59. Eitel I, Stiermaier T, Rommel KP, Fuernau G, Sandri M, Mangner N, et al. Cardioprotection by combined intrahospital remote ischaemic preconditioning and postconditioning in ST- elevation myocardial infarction: the randomized LIPSIA CONDITIONING trial. *Eur Heart J* 2015; 36: 3049-57.
60. Kokkonen JO, Kuoppala A, Saarinen J, Lindstedt KA, Kovanen PT. Kallidin- and bradykinin-degrading pathways in human heart. *Circulation* 1999; 99: 1984-90.
61. Kokkonen JO, Lindstedt KA, Kuoppala A, Kovanen PT. Kinin-degrading pathways in the human heart. *Trends Cardiovasc Med* 2000;10:42-45.
62. Jalowy A, Schulz R, Dörge H, Behrends M, Heusch G. Infarct size reduction by AT1-receptor blockade through a signal cascade of AT2-receptor activation, bradykinin and prostaglandins in pigs. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:1787-96.
63. Penna C, Mancardi D, Tullio F, Pagliaro P. Postconditioning and intermittent bradykinin induced cardioprotection require cyclooxygenase activation and prostacyclin release during reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2008;103:368-77.
64. Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278:H1571-H76.
65. Weidenbach R, Schulz R, Gres P, Behrends M, Post H, Heusch G. Enhanced reduction of myocardial infarct size by combined ACE inhibition and AT(1)-receptor antagonism. *Br J Pharmacol* 2000;131:138-44.
66. Krieg T, Cui L, Qin Q, Cohen MV, Downey JM. Mitochondrial ROS generation following acetylcholine-induced EGF receptor transactivation requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36:435-43.
67. Papatheodorou I, Galatou E, Panagiotidis GD, Ravingerová T, Lazou A. Cardioprotective Effects of PPAR β/δ Activation against Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Heart Are Associated with ALDH2 Upregulation, Amelioration of Oxidative Stress and Preservation of Mitochondrial Energy Production. *Int J Mol Sci* 2021; 22:6399.

68. Cui W, Xin S, Zhu L, Wang M, Hao Y, Zhao Y, et al. Si-Miao-Yong-An Decoction Maintains the Cardiac Function and Protects Cardiomyocytes from Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021; 2021:8968464.
69. Ji L, Zhang X, Liu W, et al. AMPK-regulated and Akt dependent enhancement of glucose uptake is essential in ischemic preconditioning-alleviated reperfusion injury. *PLoS One* 2013;8:e69910.
70. Tomai F, Crea F, Gaspardone A, Versaci F, De Paulis R, Penta de Peppo A, et al. Ischemic preconditioning during coronary angioplasty is prevented by glibenclamide, a selective ATP- sensitive K⁺ channel blocker. *Circulation* 1994;90:700-5.
71. Liu Y, Tsuchida A, Cohen MV, Downey JM. Pretreatment with angiotensin II activates protein kinase C and limits myocardial infarction in isolated rabbit hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:883-92.
72. Pugsley MK. The diverse molecular mechanisms responsible for the actions of opioids on the cardiovascular system. *Pharmacol Ther* 2002; 93: 51-75.
73. Ikeda Y, Miura T, Sakamoto J, Miki T, Tanno M, Kobayashi H, et al. Activation of ERK and suppression of calcineurin are interacting mechanisms of cardioprotection afforded by delta-opioid receptor activation. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 418-26.
74. Schultz JE, Rose E, Yao Z, Gross GJ. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol* 1995; 268: H2157-H61.
75. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an irondependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* 2012;149:1060-72.
76. Tang D, Kroemer G. Ferroptosis *Curr Biol* 2020; 30: R1292-7.
77. Xie Y, Zhu S, Song X, Sun X, Fan Y, Liu J, et al. The tumor suppressor p53 limits ferroptosis by blocking DPP4 activity. *Cell Rep* 2017; 20: 1692–704.
78. Kardami E, Detillieux K, Ma X, Jiang Z, Santiago JJ, Jimenez SK, et al. Fibroblast growth factor-2 and cardioprotection. *Heart Fail Rev* 2007;12:267-77.
79. Kudej RK, Shen YT, Peppas AP, Huang CH, Chen W, Yan L, et al. Obligatory role of cardiac nerves and alpha1-adrenergic receptors for the second window of ischemic preconditioning in conscious pigs. *Circ Res* 2006; 99: 1270-76.
80. Salie R, Moolman JA, Lochner A. The mechanism of beta-adrenergic preconditioning: roles for adenosine and ROS during triggering and mediation. *Basic Res Cardiol* 2012; 107: 281.
81. Cao, B., Wang, H., Zhang, C., et al. Remote ischemic postconditioning (RIPC) of the upper arm results in protection from cardiac ischemia-reperfusion injury following primary percutaneous coronary intervention (PCI) for acute ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). *Med. Sci. Monit* 2018; 24: 1017-26.
82. Shimizu M, Tropak M, Diaz RJ, Suto F, Surendra H, Kuzmin E, et al. Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection. *Clin Sci (Lond)* 2009; 117: 191-200.
83. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW Jr, Herrmann HC, Laskey WK. Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation* 1990; 82: 2044-51.
84. DP, Pugsley WB, Alkhulaifi AM, Kemp M, Hooper J, Yellon DM. Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart* 1997; 77: 314-18.

85. Traverse JH, Swingen CM, Henry TD, Fox J, Wang YL, Chavez IJ, et al. NHLBI-sponsored randomized trial of postconditioning during primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Circ. Res* 2019; 124:769-78.
86. Higashi Y, Sasaki S, Kurisu S, Yoshimizu A, Sasaki N, Matsuura H, et al. Regular aerobic exercise augments endothelium-dependent vascular relaxation in normotensive as well as hypertensive subjects: role of endothelium derived nitric oxide. *Circulation* 1999; 100(11): 1194-202.
87. Walsh JH, Yong G, Cheetham C, Watts GF, O'Driscoll GJ, Taylor RR, et al. Effects of exercise training on conduit and resistance vessel function in treated and untreated hypercholesterolaemic subjects. *Eur Heart J* 2003; 24(18): 1681-9
88. Gokce N, Vita JA, Bader DS, Sherman DL, Hunter LM, Holbrook M, et al. Effect of exercise on upper and lower extremity endothelial function in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2002; 90(2): 124-7.
89. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I., et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112: 2143-48.
90. Buscemi S, Canino B, Batsis JA, Buscemi C, Calandrino V, Mattina A, et al. Relationships between maximal oxygen uptake and endothelial function in healthy male adults: a preliminary study. *Acta Diabetol* 2013; 50(2): 135-41.
91. Edwards DG, Schofield RS, Lennon SL, Pierce GL, Nichols WW, Braith RW. Effect of exercise training on endothelial function in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2004; 93(5): 617-20.
92. Moriguchi J, Itoh H, Harada S, Takeda K, Hatta T, Nakata T, et al. Low frequency regular exercise improves flow-mediated dilatation of subjects with mild hypertension. *Hypertens Res* 2005; 28(4): 315-21.
93. Weston KS, Wisloff U, Coombes JS. High-intensity interval training in patients with lifestyle-induced cardiometabolic disease: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med* 2014; 48(16): 1227-34.
94. Morris JN, Everitt MG, Pollard R, Chave SP, and Semmence AM. Vigorous exercise in leisure-time: protection against coronary heart disease. *Lancet* 1980; 2: 1207-10.
95. Davison K, Bircher S, Hill A, Coates AM, Howe PR, Buckley JD. Relationships between obesity, cardiorespiratory fitness, and cardiovascular function. *J Obes* 2010; 2010: 191253.
96. Lewis TV, Dart AM, Chin-Dusting JP, Kingwell BA. Exercise training increases basal nitric oxide production from the forearm in hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(11): 2782-7.
97. Tjønnå AE, Lee SJ, Rognmo Ø, Stølen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation* 2008; 118(4): 346-54.
98. Schjerve IE, Tyldum GA, Tjønnå AE, Stølen T, Loennechen JP, Hansen HE, et al. Both aerobic endurance and strength training programmes improve cardiovascular health in obese adults. *Clin Sci (London, England: 1979)* 2008; 115(9): 283-93.
99. Mitranun W, Deerochanawong C, Tanaka H, Suksom D. Continuous vs interval training on glycemic control and macro- and microvascular reactivity in type 2 diabetic patients. *Scand J Med Sci Sports* 2014; 24(2): e69-76.
100. Moore RL and Palmer BM. Exercise training and cellular adaptations of normal and diseased hearts. *Exerc Sport Sci Rev* 1999;27:285-315.
101. Vujic A, Lerchenmüller C, Wu TD, Guillemier C, Rabolli CP, Gonzalez E, et al. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. *Nat Commun* 2018; 9(1):1659.

102. Powers SK, Demirel HA, Vincent HK, Coombes JS, Naito H, Hamilton KL, et al. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Am J Physiol* 1998; 275(5): R1468-77.
103. Koch LG, Britton SL. Rat Models of Exercise for the Study of Complex Disease. *Methods Mol Biol* 2019; 2018: 309-17.
104. Kemi OJ, Loennechen JP, Wisløff U, Ellingsen O. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 2002; 93: 1301-9.
105. Kemi OJ, Haram PM, Wisløff U, Ellingsen Ø. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. *Circulation* 2004; 109(23): 2897-904.
106. Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and SERCA-2 in rats after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002; 54(1): 162-74.
107. Lopaschuk GD, Rebeyka IM, and Allard MF. Metabolic modulation: a means to mend a broken heart. *Circulation* 2002;105:140-2.
108. Rossello X, He Z, Yellon DM. Myocardial Infarct Size Reduction Provided by Local and Remote Ischaemic Preconditioning: Reference Values from the Hatter Cardiovascular Institute. *Cardiovasc Drugs Ther* 2018; 32(2): 127-33.
109. Sciacqua A, Candigliota M, Ceravolo R, Scozzafava A, Sinopoli F, Corsonello A, et al. Weight loss in combination with physical activity improves endothelial dysfunction in human obesity. *Diabetes Care* 2003; 26(6): 1673-8.
110. Korge P, Honda HM, and Weiss JN. Effects of fatty acids in isolated mitochondria: implications for ischemic injury and cardioprotection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H259-H69.
111. Fiuza-Luces C, Santos-Lozano A, Joyner M, Carrera Bastos P, Picazo O, Zugaza JL, et al. Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors. *Nat Rev Cardiol* 2018; 15(12): 731-43.
112. Thuny F, Lairez O, Roubille F, Mewton N, Rioufol G, Sportouch C, et al. Post-conditioning reduces infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol* 2012; 59: 2175-81.
113. Mewton N, Thibault H, Roubille F, Lairez O, Rioufol G, Sportouch C, et al. Postconditioning attenuates no-reflow in STEMI patients. *Basic Res. Cardiol* 2013; 108: 383.
114. Pickard JM, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Codependence of the neural and humoral pathways in the mechanism of remote ischemic conditioning. *Basic Res Cardiol* 2016; 111(4): 50.
115. Mora S, Cook N, Buring JE, Ridker PM, Lee IM. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events: potential mediating mechanisms. *Circulation* 2007; 116(19): 2110-8.
116. Benstoem C, Stoppe C, Liakopoulos OJ, Ney J, Hasenclever D, Meybohm P, et al. Remote ischaemic preconditioning for coronary artery bypass grafting (with or without valve surgery). *Cochrane Database Syst Rev* 2017;5:CD011719.
117. Hausenloy DJ, Barrabes JA, Botker HE, Davidson SM, Di Lisa F, Downey J, et al. Ischaemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery. *Basic Res Cardiol* 2016; 11:70.
118. Rahbek SK, Farup J, de Paoli F, Vissing K. No differential effects of divergent isocaloric supplements on signaling for muscle protein turnover during recovery from muscle-damaging eccentric exercise. *Amino Acids* 2015; 47: 767-78.

119. Moller AB, Lonbro S, Farup J, Voss TS, Rittig N, Wang J, et al. Molecular and cellular adaptations to exercise training in skeletal muscle from cancer patients treated with chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019; 145:1449-60.
120. Penna C, Alloatti G, Crisafulli A. Mechanisms Involved in Cardioprotection Induced by Physical Exercise. *Anti oxid Redox Signal* 2020; 32: 1115-34.
121. Plecevic S, Jakovljevic B, Savic M, Zivkovic V, Nikolic T, Jeremic J, Milosavljevic I, Srejovic I, Tasic N, Djuric D, Jakovljevic V. Comparison of short-term and medium-term swimming training on cardiodynamics and coronary flow in high salt-induced hypertensive and normotensive rats. *Mol Cell Biochem.* 2018;447(1-2):33-45.
122. Godoy G, Travassos PB, Antunes MM, Iwanaga CC, Sá-Nakanishi AB, Curi R, Comar JF, Bazotte RB. Strenuous swimming raises blood non-enzymatic antioxidant capacity in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2022;55:e11891.
123. Prokic V, Plecevic S, Bradic J, Petkovic A, Srejovic I, Bolevich S, Jeremic J, Bolevich S, Jakovljevic V, Zivkovic V. The impact of nine weeks swimming exercise on heart function in hypertensive and normotensive rats: role of cardiac oxidative stress. *J Sports Med Phys Fitness.* 2019;59(12):2075-2083.
124. Jakovljevic B, Nikolic Turnic T, Jeremic N, Savic M, Jeremic J, Srejovic I, Belic B, Ponorac N, Jakovljevic V, Zivkovic V. The impact of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training regimes on cardiodynamic parameters in isolated heart of normotensive and hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(7):631-637.
125. Wang W, Zhang H, Xue G, Zhang L, Zhang W, Wang L, Lu F, Li H, Bai S, Lin Y, Lou Y, Xu C, Zhao Y. Exercise training preserves ischemic preconditioning in aged rat hearts by restoring the myocardial polyamine pool. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:457429.
126. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* 2007;39:175-191.
127. Koch LG, Britton SL. Rat Models of Exercise for the Study of Complex Disease. *Methods Mol Biol.* 2019;2018:309-317.
128. Vanderheyden WM, Kehoe M, Vanini G, Britton SL, Koch LG. Rat models for low and high adaptive response to exercise differ for stress-related memory and anxiety. *Physiol Rep.* 2021 Feb;9(4):e14716.
129. Brown DA, Jew KN, Sparagna GC, Musch TI, Moore RL. Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size following ischemia-reperfusion in rat heart. *J Appl Physiol* 2003; 95: 2510 –2518.
130. Morris JN, Everitt MG, Pollard R, Chave SP, Semmence AM. Vigorous exercise in leisure-time: protection against coronary heart disease. *Lancet* 1980; 2: 1207–1210.
131. Lambiase PD, Edwards RJ, Cusack MR, Bucknall CA, Redwood SR, Marber MS. Exercise-induced ischemia initiates the second window of protection in humans independent of collateral recruitment. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1174–1182.
132. Le Page C, Noirez P, Courty J, Riou B, Swynghedauw B, Besse S. Exercise training improves functional post-ischemic recovery in senescent heart. *Exp Gerontol* 2009; 44: 177–182.
133. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: From cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83: 1113–1151.
134. Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, Asahi M, Kuzuya T, Hori M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J Exp Med* 1999; 189: 1699–1706.

135. Quindry JC, French J, Hamilton KL, Lee Y, Selsby J, Powers S. Exercise does not increase cyclooxygenase-2 myocardial levels in young or senescent hearts. *J Physiol Sci* 2010; 60: 181–186.
136. Bedford TG, Tipton CM, Wilson NC, Oppliger RA, Gisolfi CV. Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *J Appl Physiol* 1979; 47: 1278–1283.
137. Starnes JW, Taylor RP, Ciccolo JT. Habitual low-intensity exercise does not protect against myocardial dysfunction after ischemia in rats. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12: 169–174.
138. Domenech RJ, Macho P, Velez D, Sanchez G, Liu X, Dhalla N. Tachycardia preconditions infarct size in dogs: role of adenosine and protein kinase C. *Circulation* 1998; 97: 786–794.
139. Husain K, Somani SM. Interaction of exercise and adenosine receptor agonist and antagonist on rat heart antioxidant defense system. *Mol Cell Biochem* 2005; 270: 209–214.
140. Tsuchida A, Thompson R, Olsson RA, Downey JM. The anti-infarct effect of an adenosine A1-selective agonist is diminished after prolonged infusion as is the cardioprotective effect of ischaemic preconditioning in rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 303–311.
141. Dickson EW, Hogrefe CP, Ludwig PS, Ackermann LW, Stoll LL, Denning GM. Exercise enhances myocardial ischemic tolerance via an opioid receptor-dependent mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H402–H408.
142. Miura T, Liu Y, Kita H, Ogawa T, Shimamoto K. Roles of mitochondrial ATP-sensitive K channels and PKC in anti-infarct tolerance afforded by adenosine A1 receptor activation. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 238–245.
143. Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, Asahi M, Kuzuya T, Hori M. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J Exp Med* 1999; 189: 1699–1706.
144. Kristiansen SB, Solskov L, Jessen N, Lofgren B, Schmitz O, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, Botker HE, Lund S. 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-ribofuranoside increases myocardial glucose uptake during reperfusion and induces late pre-conditioning: potential role of AMP-activated protein kinase. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009; 105: 10–16.
145. Maekawa N, Wada H, Kanda T, Niwa T, Yamada Y, Saito K, Fujiwara H, Sekikawa K, Seishima M. Improved myocardial ischemia/reperfusion injury in mice lacking tumor necrosis factor-alpha. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1229–1235.
146. Kavazis AN, McClung JM, Hood DA, Powers SK. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H928–H935.
147. Borlaug BA, Olson TP, Lam CS, Flood KS, Lerman A, Johnson BD, Redfield MM. Global cardiovascular reserve dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 56:845–854.
148. Pugliese NR, De Biase N, Conte L, Gargani L, Mazzola M, Fabiani I, Natali A, Dini FL, Frumento P, Rosada J, et al. Cardiac reserve and exercise capacity: insights from combined cardiopulmonary and exercise echocardiography stress testing. *J Am Soc Echocardiogr*. 2021; 34:38–50.
149. Portier H, Benaitreau D, Pallu S. Does Physical Exercise Always Improve Bone Quality in Rats? *Life (Basel)*. 2020 Sep 23;10(10):217.

150. Zhou Q, Deng J, Yao J, Song J, Meng D, Zhu Y, Xu M, Liang Y, Xu J, Sluijter JP, Xiao J. Exercise downregulates HIPK2 and HIPK2 inhibition protects against myocardial infarction. *EBioMedicine*. 2021 Dec;74:103713.
151. Geenen D, Buttrick P, Scheuer J. Cardiovascular and hormonal responses to swimming and running in the rat. *J Appl Physiol* (1985). 1988 Jul;65(1):116-23.
152. Baptista S, Piloto N, Reis F, Teixeira-de-Lemos E, Garrido AP, Dias A, Lourenço M, Palmeiro A, Ferrer-Antunes C, Teixeira F. Treadmill running and swimming imposes distinct cardiovascular physiological adaptations in the rat: focus on serotonergic and sympathetic nervous systems modulation. *Acta Physiol Hung*. 2008 Dec;95(4):365-81.
153. Sangaralingham SJ, Huntley BK, Martin FL, McKie PM, Bellavia D, Ichiki T, Harders GE, Chen HH, Burnett JC. The aging heart, myocardial fibrosis, and its relationship to circulating C-type natriuretic Peptide. *Hypertension*. 2011;57:201–207.
154. Criswell D, Powers S, Dodd S, Lawler J, Edwards W, Renshler K, Grinton S. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med Sci Sports Exerc*. 1993 Oct;25(10):1135-40.
155. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Influences of selenium deficiency, chronic training, and acute exercise. *Arch Biochem Biophys*. 1988 May 15;263(1):150-60.
156. Stein AB, Tang XL, Guo Y, et al. Delayed adaptation of the heart to stress: late preconditioning. *Stroke* 2004 Nov; 35 (11 Suppl. 1): 2676-9.
157. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res* 2000 Nov 24; 87 (11): 972-83.
158. Kaszala K, Vegh A, Papp JG, et al. Time course of the protection against ischaemia and reperfusion-induced ventricular arrhythmias resulting from brief periods of cardiac pacing. *J Mol Cell Cardiol* 1996Oct; 28 (10): 2085-95.
159. Baxter GF, Goma FM, Yellon DM. Characterisation of the infarct-limiting effect of delayed preconditioning: timecourse and dose-dependency studies in rabbit myocardium. *Basic Res Cardiol* 1997 Jun; 92 (3): 159-67.
160. Taylor RP, Starnes JW. Age, cell signalling and cardioprotection. *Acta Physiol Scand* 2003 Jun; 178 (2): 107-16.
161. Brown DA, Chicco AJ, Jew KN, et al. Cardioprotection afforded by chronic exercise is mediated by the sarcolemmal, and not the mitochondrial, isoform of the KATP channel in the rat. *J Physiol* 2005 Dec 15; 569 (Pt 3): 913-24.
162. Bowles DK, Starnes JW. Exercise training improves metabolic response after ischemia in isolated working rat heart. *J Appl Physiol* 1994 Apr; 76 (4): 1608-14.
163. Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, et al. Endurance training limits the functional alterations of rat heart mitochondria submitted to in vitro anoxia-reoxygenation. *Int J Cardiol* 2006 May 10; 109 (2): 169-78.
164. Demirel HA, Powers SK, Caillaud C, et al. Exercise training reduces myocardial lipid peroxidation following short-term ischemia-reperfusion. *Med Sci Sports Exerc* 1998 Aug; 30 (8): 1211-6.
165. Demirel HA, Powers SK, Zergeroglu MA, et al. Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *J Appl Physiol* 2001 Nov; 91 (5): 2205-12.
166. French JP, Quindry JC, Falk DJ, et al. Ischemia-reperfusion-induced calpain activation and SERCA2a degradation are attenuated by exercise training and calpain inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006 Jan; 290 (1): H128-36.

167. Hamilton KL, Powers SK, Sugiura T, et al. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001 Sep; 281 (3): H1346-52.
168. Hamilton KL, Quindry JC, French JP, et al. MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias. *Free Radic Biol Med* 2004 Nov 1; 37 (9): 1360-8.
169. Hamilton KL, Staib JL, Phillips T, et al. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2003 Apr 1; 34 (7): 800-9.
170. Powers SK, Demirel HA, Vincent HK, et al. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Am J Physiol* 1998 Nov; 275 (5 Pt 2): R1468-77.
171. Taylor RP, Harris MB, Starnes JW. Acute exercise can improve cardioprotection without increasing heat shock protein content. *Am J Physiol* 1999 Mar; 276 (3 Pt 2): H1098-102.
172. Starnes JW, Taylor RP, Ciccolo JT. Habitual low-intensity exercise does not protect against myocardial dysfunction after ischemia in rats. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005 Apr; 12 (2): 169-74.
173. Lennon SL, Quindry JC, French JP, et al. Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiol Scand* 2004 Oct; 182 (2): 161-9.
174. Lennon SL, Quindry J, Hamilton KL, et al. Loss of exercise-induced cardioprotection after cessation of exercise. *J Appl Physiol* 2004 Apr; 96 (4): 1299-305.
175. Ignarro LJ, Balestrieri ML, Napoli C. Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: an update. *Cardiovasc Res* 2007 Jan 15; 73 (2): 326-40.
176. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 2003 Jun 24; 107 (24): 3109-16.
177. Blair SN, Goodyear NN, Gibbons LW, et al. Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. *JAMA* 1984 Jul 27; 252 (4): 487-90.
178. Paffenbarger Jr RS, Wing AL, Hyde RT, et al. Physical activity and incidence of hypertension in college alumni. *Am J Epidemiol* 1983 Mar; 117 (3): 245-57.
179. Kokkinos PF, Narayan P, Collieran JA, et al. Effects of regular exercise on blood pressure and left ventricular hypertrophy in African-American men with severe hypertension. *N Engl J Med* 1995 Nov 30; 333 (22): 1462-7.
180. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999 Feb 23; 99 (7): 963-72.
181. Laughlin MH, Oltman CL, Bowles DK. Exercise training-induced adaptations in the coronary circulation. *Med Sci Sports Exerc* 1998 Mar; 30 (3): 352-60.
182. Quindry JC, French J, Hamilton KL, et al. Cyclooxygenase-2 is unaltered by exercise in the young and old heart. *Med Sci Sports Exerc* 2006; 38 (5): S416.
183. Bell RM, Smith CC, Yellon DM. Nitric oxide as a mediator of delayed pharmacological (A (1) receptor triggered) preconditioning: is eNOS masquerading as iNOS? *Cardiovasc Res* 2002 Feb 1; 53 (2): 405-13.
184. Babai L, Szigeti Z, Parratt JR, et al. Delayed cardioprotective effects of exercise in dogs are aminoguanidine sensitive: possible involvement of nitric oxide. *Clin Sci (Lond)* 2002 Apr; 102 (4): 435-45.

185. Taylor RP, Olsen ME, Starnes JW. Improved postischemic function following acute exercise is not mediated by nitric oxide synthase in the rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007 Jan; 292 (1): H601-7.
186. Brown DA, Lynch JM, Armstrong CJ, et al. Susceptibility of the heart to ischaemia-reperfusion injury and exercise-induced cardioprotection are sex-dependent in the rat. *J Physiol* 2005 Apr 15; 564 (Pt 2): 619-30.
187. Ranki HJ, Budas GR, Crawford RM, et al. 17Beta-estradiol regulates expression of K (ATP) channels in heart-derived H9c2 cells. *J Am Coll Cardiol* 2002 Jul 17; 40 (2): 367-74.
188. Domenech R, Macho P, Schwarze H, et al. Exercise induces early and late myocardial preconditioning in dogs. *Cardiovasc Res* 2002 Aug 15; 55 (3): 561-6.
189. Brown DA, Moore RL. Perspectives in innate and acquired cardioprotection: cardioprotection acquired through exercise. *J Appl Physiol* 2007 Nov; 103 (5): 1894-9.
190. Powers SK, Quindry J, Hamilton K. Aging, exercise, and cardioprotection. *Ann N Y Acad Sci* 2004 Jun; 1019: 462-70.
191. Coombes JS, Powers SK, Hamilton KL, et al. Improved cardiac performance after ischemia in aged rats supplemented with vitamin E and alpha-lipoic acid. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000 Dec; 279 (6): R2149-55.
192. Powers SK, Criswell D, Lawler J, et al. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol* 1993 Dec; 265 (6 Pt 2): H2094-8.
193. Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, et al. Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J Exp Med* 1999 Jun 7; 189 (11): 1699-706.
194. Holmgren A. Hydrogen donor system for Escherichia coli ribonucleoside-diphosphate reductase dependent upon glutathione. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976 Jul; 73 (7) 2275-9.
195. Starnes JW, Barnes BD, Olsen ME. Exercise training decreases rat heart mitochondria free radical generation but does not prevent Ca²⁺-induced dysfunction. *J Appl Physiol* 2007 May; 102 (5): 1793-8.
196. Kavazis AN, McClung JM, Hood DA, et al. Exercise induces a cardiac mitochondrial phenotype that resists apoptotic stimuli. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008 Feb; 294 (2): H928-35.
197. Cao Danh H, Strolin Benedetti M, Dostert P, et al. Age-related changes in benzylamine oxidase activity in rat tissues. *J Pharm Pharmacol* 1984 Sep; 36 (9): 592-6.

БИОГРАФИЈА

Милош Глишић, рођен 14.10.1992. године у Крагујевцу, уписао је Факултет за спорт и физичко васпитање Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици школске 2011/2012 године, на ком је након 4 године (2015. године) дипломирао и стекао стручни назив „Дипломирани професор физичког васпитања и спорта“ са просечном оценом 9,11. На истом Факултету је школске 2015/2016 уписао мастер академске студије које је са просеком 9,90 завршио након годину дана (2016. године) и стекао стручни назив „Мастер професор физичког васпитања и спорта“. Докторске академске студије на Факултету спорта и физичког васпитања Универзитета у Нишу уписао је 2016. године, а од школске 2018/2019. године студент је треће године Докторских студија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. Од марта 2019. ангажован је као фацитатор а потом и сарадник у настави на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, за ужу научну област Методологија антропометрије и као тренер мушких секција ФСД Медицинар. Тренутно се налази у звању асистента за ужу научну област Морфологија антропометрије.

Списак релевантних публикација

1. **Glisic M**, Nikolic Turnic T, Zivkovic V, Pindovic B, Chichkova NV, Fisenko VP, Nikolic M, Stijak L, Yurievna LE, Veselinovic M, Jovicic M, Mihajlovic K, Bolevich S, Jakovljevic V. The Enhanced Effects of Swimming and Running Preconditioning in an Experimental Model of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(11):1995.
2. Rankovic M, Jeremic N, Srejovic I, Radonjic K, Stojanovic A, **Glisic M**, Bolevich S, Bolevich S, Jakovljevic V. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors as new tools for cardioprotection. *Heart Fail Rev*. 2021 Mar;26(2):437-450.
3. **Glisic M**, Pindovic B. Cardioprotective Effects of Physical Activity: Focus on Ischemia and Reperfusion. *Experimental and Applied Biomedical Research (EABR)*. 2022;0(0). doi.org/10.2478/sjecr-2022-0025.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Прекондиционирање исхемијско реперфузионе повреде срца пацова различитим типовима тренажних процеса

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

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

У Крагујевцу, 09.01.2024. године,



потпис аутора

Образац 2

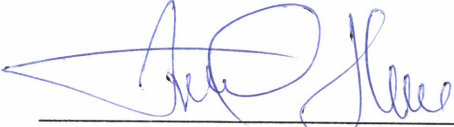
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

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

Прекондиционирање исхемијско реперфузионе повреде срца пацова различитим типовима
тренажних процеса

истоветне.

У Крагујевцу, 09.01.2024. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Милош Глишић,

дозвољавам

не дозвољавам

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

Прекондиционирање исхемијско реперфузионе повреде срца пацова различитим типовима тренажних процеса

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

Овом Изјавом такође

дозвољавам


не дозвољавам¹

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

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

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 09.01.2024. године



потпис аутора

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