

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Tatjana L. Tasić

**UTICAJ STALNOG MAGNETNOG POLJA
NA NEUROGENU KONTROLU
CIRKULACIJE SPONTANO
HIPERTENZIVNIH PACOVA I EKSPRESIJU
RECEPTORA ANGIOTENZINA II U JEDRU
SOLITARNOG TRAKTA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Tatjana Tasić

**SMF ON NEUROGENIC CONTROL OF THE
CIRCULATION IN SHR AND
ANGIOTENSIN II RECEPTORS
EXPRESSION IN NTS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2019

Mentor:

Nina Japundžić- Žigon, redovni profesor, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet u Beogradu

Komentor:

Silvio de Luka, vanredni profesor, Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet u Beogradu

Članovi komisije:

Aleksandar Trbović, vanredni profesor, Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet u Beogradu

Dragana, Puzović, redovni profesor, Sudska medicina, Stomatološki fakultet u Beogradu

Dragana Bajić, redovni profesor, Katedra za telekomunikacije i obradu signala, Fakultet tehničkih nauka Univerziteta u Novom Sadu

Datum odbrane: _____

UTICAJ STALNOG MAGNETNOG POLJA NA NEUROGENU KONTROLU CIRKULACIJE SPONTANO HIPERTENZIVNIH PACOVA I EKSPRESIJU RECEPTORA ANGIOTENZINA II U JEDRU SOLITARNOG TRAKTA

REZIME

Svi živi organizmi na zemlji stalno su izloženi magnetnom polju za koje je pokazano da, zavisno od intenziteta i dužine ekspozicije, može značajno da menja brojne fiziološke funkcije. U ovom radu ispitivali smo antihipertenzivni potencijal stalnog magnetnog polja srednjeg intenziteta i pratili moguće štetno dejstvo na hematopoezne organe. Eksperimenti su izvedeni na odraslim mužijacima spontano hipertenzivnih pacova randomizovanim u 3 eksperimentalne grupe: GRUPA I (n=17) izložena 30 dana kontinuirano dejstvu severnog pola stalnog magnetnog polja; GRUPA II (n=17) 30 dana kontinuirano izložena južnom polu stalnog magnetnog polja i treća, KONTROLNA GRUPA (n=17) koja nije bila izložena stalnom magnetnom polju. Nakon ekspozicije, pacovima je ugrađen kateter u femoralnu arteriju za registraciju arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije. Kratkoročni varijabilitet arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije evaluiran je spektralnom analizom (brzom Furijeovom transformacijom), a senzitivnost baroreceptorskog refleksa metodom sekvenci. Genska ekspresija receptora angiotenzina II u jedru solitarnog trakta određena je RT-qPCR metodom. Stepent hipertenzivne kardiomiopatije i glomeruloskleroze procenjivan je post mortem patohistološkim pregledom. Krvna slika, celularnost slezine i koštane srži određivana je u specijalnoj komori za brojanje ćelija. Kontinuirano izlaganje spontano hipertenzivnih pacova južnom polu stalnog magnetnog polja povećalo je gensku ekspresiju AT_{1b} receptora a smanjilo ekspresiju AT₂ receptora u jedru solitarnog trakta. Ekspozicija spontano hipertenzivnih pacova stalnom magnetnom polju obe orijentacije dovela je do smanjenja arterijskog krvnog pritiska i njegovog kratkoročnog varijabiliteta kao i do povećanja senzitivnost baroreceptorskog refleksa, ali bez efekta na razvoj hipertenzivne kardiomiopatije i glomeruloskleroze. Istovremeno primećeno je smanjenje broja trombocita u krvi, granulocita u slezini i koštanoj srži i porast broja eritrocita u slezini. Iz svega proističe da bi stalno magnetno polje moglo da ima antihipertenzivni terapijski potencijal kod obolelih

ljudi, posebno kod onih sa smanjenom osetljivošću barorefleksa, ali uz poseban oprez prema mogućoj pojavi neželjenog dejstva na hematopoezni sistem.

Ključne reči: stalni magnetno polje, baroreceptorski refleks, varijabilitet krvnog pritiska, ekspresija receptora angiotenzina II

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Molekularna medicina

SMF ON NEUROGENIC CONTROL OF THE CIRCULATION IN SHR AND ANGIOTENSIN II RECEPTORS EXPRESSION IN NTS

SUMMARY

All living organisms on earth are constantly exposed to a magnetic field that has been shown to modulate physiological functions depending on the intensity and length of the exposure. In this study, we examined the antihypertensive potential of mid intensity (16 mT) static magnetic field (SMF) and monitored the possible harmful effect of SMF on haematopoietic organs. Experiments were performed in adult male spontaneously hypertensive (SH) rats randomized in 3 experimental groups: GROUP I (n = 17) continuously exposed to the North Pole of the SMP for 30 days; GROUP II (n = 17) continuously exposed to the South Pole of the SMP for 30 days and third; CONTROL group (n = 17) that was not exposed to the SMP. After exposure, SH rats were equipped with femoral arterial catheter for arterial blood pressure (BP) and heart rate (HR) recording. The short-term variability of BP and HR was evaluated by spectral analysis (based on fast Fourier transformation), and the sensitivity of baroreceptor reflex (BRS) was estimated by the sequence method. Gene expression of angiotensin II receptors in the nucleus of the solitary tract (NTS) was determined by the RT-qPCR method. The degree of hypertensive cardiomyopathy and glomerulosclerosis was assessed post-mortem by pathohistological examination. Peripheral blood cell count, spleen and bone marrow cellularity were determined in the cell count chamber. Continuous exposure of SH rats to the South Pole of the SMP increased the gene expression of the AT_{1b} receptors and reduced the gene expression of the AT₂ receptors in the NTS. Exposure of SH rats to SMP of either orientation decreased BP and its short-term variability and increased BRS without ameliorating hypertensive cardiomyopathy and glomerulosclerosis. At the same time, a decrease in the number of platelets in peripheral blood, granulocytes in the spleen and bone marrow and an increase in the number of erythrocytes in the spleen, was observed. It follows that mid intensity SMP might be useful in the treatment of hypertensive subjects with reduced BRS, taking special caution on eventual adverse effects on hematopoiesis.

Keywords: static magnetic field, baroreceptor reflex, blood pressure variability, angiotensin II receptors expression

Scientific field: Medicine

Scientific subfield: Molecular medicine

SADRŽAJ

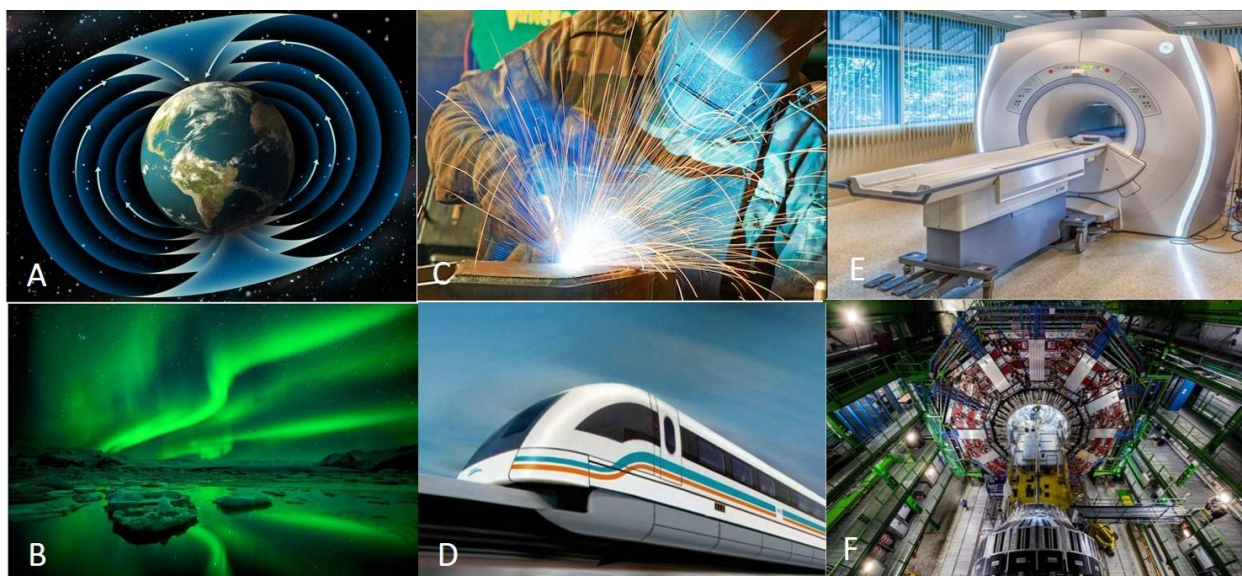
1. UVOD	1
1.1. Stalno magnetno polje – izvori zračenja	1
1.2. Dejstvo na ljudski organizam	2
1.3. Neuroendokrina regulacija cirkulacije	4
1.3.1 Arterijski barorefleks	4
1.3.2. Renin angiotenzin sistem u cirkulatornoj homeostazi	7
1.3.2.1. Klasični renin angiotenzin sistem	7
1.3.2.2. Renin angiotenzin sistem u mozgu	10
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	13
3. MATERIJAL I METODE	14
4.1. Životinje	14
4.2. Eksperimentalni protokol	14
4.3. Evaluacija genske ekspresije angiotenzinskih AT _{1a} , AT _{1b} i AT ₂ receptora u nucleus tractus solitarius-u	15
4.3.1. Uzorkovanje i priprema tkiva za analizu	15
4.3.2. Homogenizacija tkiva	15
4.3.3. Izolacija ukupne ribonukleinske kiseline	16
4.3.4. Sinteza komplementarne deoksiribonukleinske kiseline	16
4.3.5. Lančana umnožavanja polimerazom praćenu u stvarnom vremenu (RTqPCR)	17
4.4. Registracija i analiza hemodinamskih parametara	18
4.4.1. Spektralna analiza arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije	18
4.4.2. Evaluacija spontanog baroreceptorskog refleksa	19
4.5. Histopatološka analiza srca i bubrega	21
4.6. Kvantitativna analiza noradrenalina u krvnoj plazmi	21
4.7. Analiza hematoloških parametara u perifernoj krvi	22
4.8. Analiza celularnosti slezine i koštane srži	22
4.9. Statistika	22
4. REZULTATI	23
5.1. Dejstvo SMP-a na gensku ekspresiju angiotenzinskih AT _{1a} , AT _{1b} , AT ₂ receptora u nucleus tractus solitarius-u	23
5.2. Dejstvo SMP-a na arterijski krvni pritisak i srčanu frekvenciju	24

5.2.1. Dejstvo SMP-a na kratkoročnog varijabiliteta arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije	25
5.2.2. Dejstvo SMP-a na spontani baroreceptorski reflex	28
5.3. Dejstvo SMP-a na koncentraciju noradrenalina u krvnoj plazmi.....	29
5.4. Dejstvo SMP-a na hipertenzivnu miokardiopatiju i glomerulosklerozu.....	29
5.5. Dejstvo SMP-a na hematološke parametare u perifernoj krvi	31
5.6. Dejstvo SMP-a na celularnosti slezine i koštane srži	33
5. DISKUSIJA	36
6. ZAKLJUČCI.....	48
7. LITERATURA	50

1. UVOD

1.1. STALNO MAGNETNO POLJE – IZVORI ZRAČENJA

Reč magnet vodi poreklo od naziva oblasti u Grčkoj, Magneziji, u kojoj se moglo naći kamenje sa magnetnim svojstvima (Philpott i sar., 2000). Postoje vremenski zavisna (elektromagnetna) i nezavisna (stalna) magnetna polja. Stalna magnetna polja (SMP) mogu biti prirodna ili veštačka. Takođe, SMP-a možemo klasifikovati na osnovu intenziteta na: slaba ($< 1\text{ mT}$), srednja ($1\text{ mT} - 1\text{ T}$), jaka ($1 - 5\text{ T}$) i ultra jaka ($>5\text{ T}$). Živi svet je kontinuirano izložen dejstvu stalnog magnetnog polja Zemlje slabog intenziteta od $20\text{ }\mu\text{T}$ na ekvatoru do $70\text{ }\mu\text{T}$ na polovima (**Slika 1.A**). Prirodna SMP koja takođe mogu uticati na živi svet su poreklom od solarne aktivnosti i procesa u atmosferi (WHO, 2006) (**Slika 1.B**). Veštački stvorena magnetna polja su prisutna u industriji, saobraćaju, zdravstvu i istraživanjima (WHO, 2006). Slabo SMP (od nekoliko μT do 1 mT) može se detektovati oko čeličnih konstrukcija zgrada, kućnih uređaja, mobilnih telefona, baterija, itd. Radnici koji obavljaju poslove u proizvodnji aluminijuma kao i varioci su izloženi dejstvu SMP-a srednjeg intenziteta do 60 mT , putnici u modernim vozovima čije je kretanje zasnovano na principu magnetne levitacije su u zavisnosti od dizajna vozova izloženi dejstvu SMP-a intenziteta od $50\text{ }\mu\text{T} - 2\text{ mT}$ (**Slika 1.C,D**). Zaposleni u zdravstvu su izloženi dejstvu SMP-a srednjeg i velikog intenziteta (od $0.2 - 3\text{ T}$) nuklearne magnetne rezonancije koja se koristi u rutinskoj dijagnostici oboljenja (**Slika 1.D,E**). Gasne komore za detekciju subatomske partikula, akceleratori i termonuklearni reaktori koji se koriste u istraživanjima karakteriše SMP velikog intenziteta, čak do 22 T (**Slika 1.F**).



Slika 1. Izvori stalnog magnetnog polja. Stalno magnetno polje Zemlje (A). *Aurora borealias* (B). Varilac (C). MALEV voz (D). Nuklearna magnetna rezonanca (E). Akcelerator (F). Slike modifikovane i preuzete sa <https://www.drpawluk.com/education/magnetic-science/geomagnetic-fields/>, <http://www.enriquepacheco.com/about-aurora-borealis/?lang=es>, <https://www.mechanicscout.com/mig-welders/>, <http://en.silkroad.news.cn/2018/0705/101822.shtml>, <https://www.vanrad.com/imaging-exams/mri/>, <https://www.tportal.hr/tehno/clanak/ambiciozni-cern-planira-izgraditi-jos-veci-akcelerator-cestica-vrijedan-21-milijardu-eura-foto-20190121> .

1.2. DEJSTVO NA LJUDSKI ORGANIZAM

Opisana su korisna i štetna dejstva SMP-a na žive organizme i ljude zavisno od intenziteta i trajanja ekspozicije. Kinezi, Egipćani i Grci su koristili kamenje sa magnetnim svojstvima u lečenju još 2000 godina pre nove ere. Epidemiološke studije su pokazale kontroverzne rezultate u humanoju populaciji koja je bila izložena uticaju SMP različitog intenziteta. Rockette i Arena (1983) su pokazali da radnici u industriji koji su bili izloženi dejstvu SMP-a imaju blago povećan mortalitet od karcinoma pankreasa, genitourinarnog trakta, limfoma i leukemija, ali bez statističke značajnosti. Primećeno je da postoji balgo povećan rizik od pobačaja kod zdravstvenih radnica u dijagnostičkim centrima u kojima se koristi nuklearna magnetna rezonanca (Kanal i sar., 1993). Postoje podaci da se kod radnika izloženih SMP-u srednjeg i velikog intenziteta registruje pojava vrtoglavice, glavobolje, poremećaj srčanog

ritma kao i povećan protok krvi u srcu i aorti (ICNIRP, 1994). Savitz i sar. (1999) su pokazali da kod električara koji su izloženi dejstvu SMP dolazi do povećanog mortaliteta usled srčanih aritmija i infarkta. Podaci dobijeni u epidemiološkim studijama nisu pouzdani zbog metodoloških ograničenja u smislu da postoji mali broj ispitanika, kratak vremenski period ispitivanja, ispitanici su izloženi i dejstvu drugih pridruženih štetnih faktora u industrijskoj proizvodnji kao i mali broj izvedenih studija.

Dobro je poznato da stalno magnetno polje srednjeg intenziteta utiče na brojne fiziološke procese u organizmu: zapaljenje (Segal i sar., 2001), zarastanje rana (Man i sar., 1999), regeneraciju tkiva (Xu i sar., 2001), učenje (Levine i Bluni, 1994), razviće, ponašanje (WHO, 2006), programiranu ćelijsku smrt, pa čak i rast tumora (Tofani i sar., 2001). Takođe su laboratorijska istraživanja pokazala da SMP srednjeg intenziteta deluje i na mnoge procese u samoj ćeliji. SMP moduliše aktivnost jonskih kanala i na taj način povećava koncentraciju jona Ca^{2+} u ćeliji (Wieraszkowski, 2000). SMP može menjati orijentaciju ćelija tako što utiče na orijentaciju fosfolipida i transmembranskih proteina u ćelijskim membranama (Murayama, 1965; Higashi i sar., 1993). Metabolizam ćelije SMP moduliše uticajem na enzimsku aktivnost i brzinu hemijskih reakcija (Hore i Mouritsen, 2016), Sabo i saradnici (2002) su pokazali da postoji smanjena metabolička aktivnost HL-60 ćelijske linije. Poznato je da SMP stimuliše programiranu ćelijsku smrt (Zmyslony i sar., 2004), verovatno tako što dovodi do produkcije slobodnih radikala, oksidativnog stresa ćelije (Zhao i sar., 2011) i oštećenja deoksiribonukleinske kiseline (DNK) (Sarvestani i sar., 2010; Ghodbane i sar., 2013).

Uticaj SMP-a na hematopoezu i krvne parametre nije dovoljno ispitan i postojeće studije daju oprečne rezultate. Epidemiološke studije su pokazale da izlaganje SMP-u srednjeg intenziteta može dovesti do porasta broja limfocita i monocita, a smanjenja broja neutrofila (Marsh i sar., 1982). Neke studije su pokazale da SMF može uticati na produkciju i/ili eliminaciju reaktivnih kiseoničnih i azotnih slobodnih radikala koji oštećuju ćelijske strukture (Okano, 2008), čime se može objasniti efekat na leukocite (Zmyslony i sar., 2004; Politanski i sar., 2013). SMP može uticati i na eritrocite menjajući karakteristike hemoglobina u smislu redukovanja njegove auto-oksidacije, i samim tim dovesti do pseudoanemije (Atef i sar., 1995). Takođe, eritrociti izloženi dejstvu SMP-a srednjeg intenziteta pokazuju promenu svog oblika u pravcu nastanka sferocita i povećanu agregaciju (Elblbesy, 2010), što je verovatno uticaj SMP-a na reorijentaciju fosfolipida u ćelijskim membranama. Barnothy (1969) je prva istraživala uticaj homogenog magnetnog polja na hematopoezu i trombocite i pokazala da

postoji supresija megakariocitne loze miševa verovatno kao posledica nespecifičnog stresa koje uzrokuje ekspozicija magnetnom polju (Barnothy i Sumegi 1969; Barnothy i Barnothy 1970).

Istraživanja na životinjama su pokazala da stalno magnetno polje srednjeg intenziteta pospešuje mikrocirkulaciju (McKay i sar., 2007). Okano i Ohkubo (2001) su pokazali da SMP, intenziteta 1 mT, smanjuje periferni otpor krvnih sudova i povećava protok krvi. Stalno magnetno polje srednjeg intenziteta smanjuje koncentraciju cirkulišućeg angiotenzina II i usporava razvoj hipertenzije kod spontano hipertenzivnih pacova (Okano i sar., 2005). Pokazano je da stalno magnetno polje srednjeg intenziteta povećava osetljivost baroreceptorskog refleksa zečeva (Gmitrov i Ohkubo, 2002; Gmitrov, 2010; 2015).

1.3. NEUROENDOKRINA REGULACIJA CIRKULACIJE

Glavnu ulogu u održavanju homeostaze cirkulacije imaju autonomni nervni sistem i endokrini sistem. Spontani arterijski barorefleks je mehanizama najznačajniji za brzu nervnu regulaciju kardiovaskularnog sistema, a u dugoročnoj kontroli cirkulacije rennin aniotenzinski sistem ima važnu ulogu.

1.3.1. ARTERIJSKI BAROREFELKS

Arterijski baroreceptorski refleks (BRR) predstavlja glavni neurogeni korektor arterijskog krvnog pritiska. Promene arterijskog krvnog pritiska registruju baroreceptori koji se nalaze se u zidu aorte i u karotidnom sinus u račvi *arterie carotis communis*. Informacije se prenose aferentnim parasimpatičkim vlaknima *nervusa vagus*-a i *nervusa glossopharyngeus*-a od baroreceptora u zidu gore navedenih krvnih sudova do *nucleus tractus solitarius* (NTS) smeštenog u dorzomedijalnom delu produžene moždine (Dampney, 1994). Iz NTS-a informacije se dalje prenose do susednih medularnih struktura (drugih jedara vagusa, CVLM RVLN) i viših moždanih struktura (hipotalamus, limbički sistem, korteks). U NTS-u se formira eferentni tonus parasimpatikusa odakle se informacije dalje šalju preko *nucleus ambiguus*-a i *nucleus dorsalis vagus*-a do srca. Na funkciju NTS-a utiču više moždane strukture i na taj način stimulišu ili inhibiraju rad barorefleksa. Simpatički tonus formira se na

nivou *rostralne ventrolateralne medullae* (RVLM) koja integriše informacije dospel iz NTS-a, *caudalne ventrolateralne medullae* (CVLM) i viših moždanih centara (Chan i Sawchenko, 1998) i koji se dalje prenosi presimpatičkim nervnim vlaknima do interneurona u intermediolateralnoj kolumni kičmene moždine (IML), zatim preko preganglijskih vlakana do torakalnih simpatičkih paravertebralnih ganglija i dalje putem postganglijskih simpatičkih vlakana prema srcu, krvnim sudovima, bubrezima i nadbubrežnim žlezdama (**Figura 1.**)

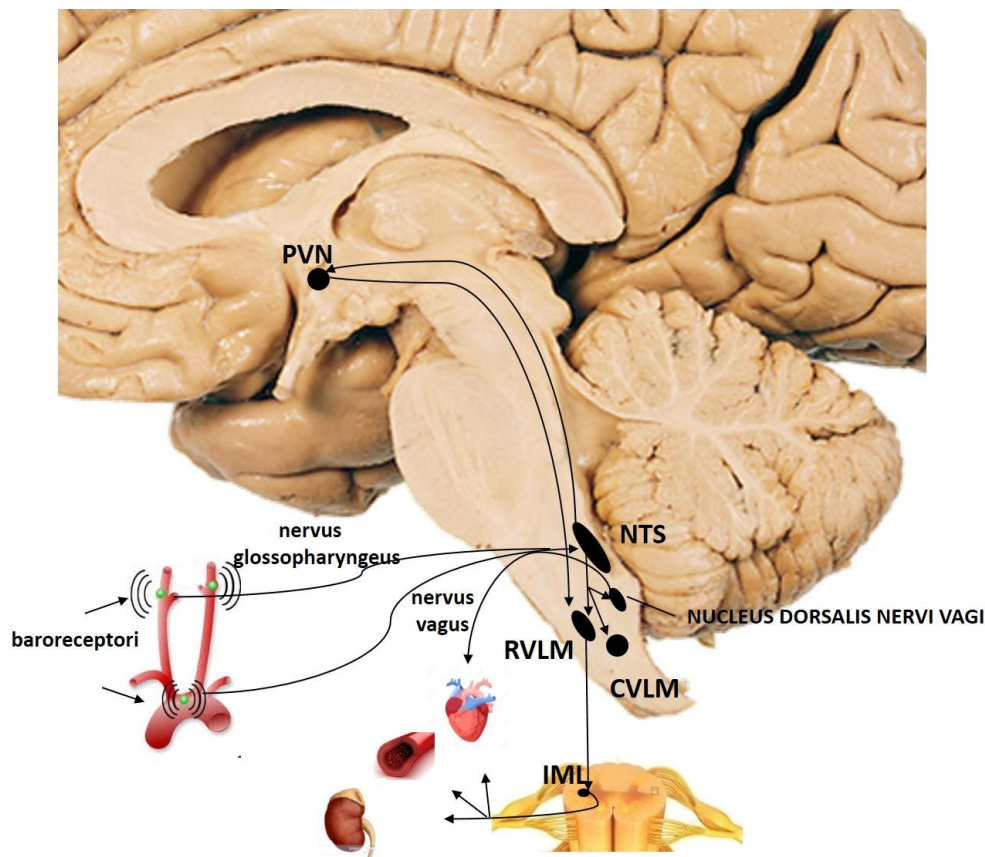


Figura 1. Arterijski barorefleks. Informacije se prenose od baroreceptora aferentnim nervnim vlaknima vagusa i glosofaringeusa do NTS-a, a zatim dalje do RVLM-a, CVLM-a i PVN-a. Parasimpatički eferentni tonus formiran na nivou NTS-a se dalje prenosi do nucleus dorsalis nervi vagi odakle nervnim vlaknima vagusa ide do srca. Simpatički tonus formiran na nivou RVLM-a se presimpatičkim nervnim vlaknima prenosi do IML-a, a zatim simpatičkim eferentnim nervnim vlaknima prema srcu, krvnim sudovima, bubregu i nadbubrežnoj žlezdi. PVN- *nucleus paraventricularis*, NTS- *nucleus tractus solitaries*, RVLM- *rostralventrolateralna medulla*, CVLM- *caudoventrolateralna medulla*, IML- *intermediolateralna medulla*. Slika modifikovana i preuzeta sa <https://www.thinglink.com/scene/502299276215320578>.

Poremećaj rada baroreceptorskog refleksa značajno doprinosi nastanku hipertenzije (Brooks i Sved, 2005). U ranoj fazi neuoregene hipertenzije dolazi do izmeštanja težišta rada baroreceptorskog refleksa, a kasnije u odmakloj fazi bolesti zabeleženo je i smanjenje osetljivosti BRR (Souza, 2001). Smanjena osetljivost baroreceptorskog refleksa u hipertenziji povezana je sa lošim ishodom bolesti (Narkiewicz i sar., 2008).

Poremećaj rada barorefleksa odražava se i na kratkoročni varijabilitet arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije. Odavno je poznato da krvni pritisak i srčana frekvencija spontano variraju u funkciji vremena (Hales 1733; Ludwig, 1847; Traube, 1865). Akselrod i saradnici (1981, 1985) su spektralnom analizom identifikovali i kvantifikovali oscilacije kratkoročnog varijabiliteta krvnog pritiska i srčanog rada. Tako se složene oscilacije krvnog pritiska i srčanog rada prema frekvenciji oscilovanja mogu podeliti na oscilacije veoma niskih frekvencija (*very low frequency*- VLF), niskih frekvencija (*low frequency*- LF) i visokih frekvencija (*high frequency*-HF). Različiti regulatorni mehanizmi su uključeni u generisanje i modulaciju oscilacija krvnog pritiska i srčane frekvencije (Japundžić-Žigon, 1998). Na oscilacije krvnog pritiska u VLF domenu spektra koje su dominantne u bazalnim uslovima utiče renin angiotenzin sistem, azot-(II)-oksid (NO), miogena aktivnost zida krvnih sudova, termoregulacija i baroreceptorski refleks (Japundžić-Žigon, 1998; Stauss, 2007). Oscilacije u LF delu spektra krvnog pritiska su izražene u stresu i odraz su simpatičke aktivnosti (Japundžić-Žigon, 1998; Stauss, 2007). HF oscilacija krvnog pritiska javlja se usled pada vrednosti krvnog pritiska tokom inspiracije i ustvari predstavlja mehanički efekat respiracije na krvni pritisak (Japundžić i sar., 1990). Aktivnost simpatikusa i vagusa modulišu, putem baroreceptorskog refleksa, oscilacije srčane frekvencije u LF domenu spektra, dok HF oscilacija srčane frekvencije reflektuje funkciju vagusa (Aubert i sar., 1999). Povećanje kratkoročnog varijabiliteta arterijskog krvnog pritiska kao i smanjenje kratkoročnog varijabiliteta srčane frekvencije u hipertenziji povezani su sa lošom kliničkom prognozom bolesti (Mancia i Parati, 2003; Malliani, 2005).

Svaki pad arterijskog krvnog pritiska ili *feed-forward* naredba iz mozga u toku stresa/fizičkog opterećenja, dovodi do povećanja simpatičkog upliva prema srcu i krvnim sudovima kao i prema bubregu - endokrinom delu koji dovodi do sinteze i otpuštanja reninina u krv. Renin-angiotenzinski i aldosteronski sistem inter-reaguju na više nivoa sa simpatikusom u regulaciji cirkulacije, kako na periferiji tako i u mozgu. Poremećeni međusobni uticaju simpatikusa i angiotenzina takođe doprinose nastanku i pogoršanju kardiovaskularnih oboljenja.

1.3.2. RENIN ANGIOTENZIN SISTEM U CIRKULATORNOJ HOMEOSTAZI

Renin angiotenzin sistem (RAS) je otkriven 1898 godine kada su Tigersted i Bergam pokazali da se povišen krvni pritisak javlja kod zeca kada mu se ubrizga ekstrakt bubrega drugog zeca, a supstancu koja je bila veza između bubrega i hipertenzije nazvali su renin. Goldblatt i saradnici (1934) su pokazali da se hipertenzija razvija kod pasa kojima je smanjen protok krvi kroz bubrežni arteriju postavljanjem klipa na bubrežnu arteriju. Dve grupe naučnika su nezavisno jedna od druge 1940. godine otkrile supstancu odgovornu za renalnu hipertenziju koju su nazvali hipertenzin (Braun-Menendez i sar., 1940) i angiotonin (Page i Helmer, 1940), kasnije je ta supstanca dobila naziv angiotenzin (Skeggs i sar., 1976). U drugoj polovini XX veka su identifikovane i druge komponente RAS-a kao što su peptidi angiotenzin III, IV, angiotenzin (1-7), enzimi amniopeptidaze A, N, angiotenzin konvertujući enzim 2 (ACE2) i himaza kao i receptori AT₄, (pro)reninski i Mas receptori (Fyhrquist i Saijonmaa, 2008). Danas se zna da postoji klasični (cirkulišući) i tkivni (lokalni) renin angiotenzin sistem (Fyhrquist i Saijonmaa, 2008).

1.3.2.1. Klasični renin angiotenzin sistem

Klasični renin angiotenzin sistem ima značajnu ulogu u održavanju kardiovaskularne homeostaze, balansa vode i elektrolita koju ostvaruje prvenstveno putem angiotenzina II (AT II) i AT₁ receptora (**Figura 2.**).

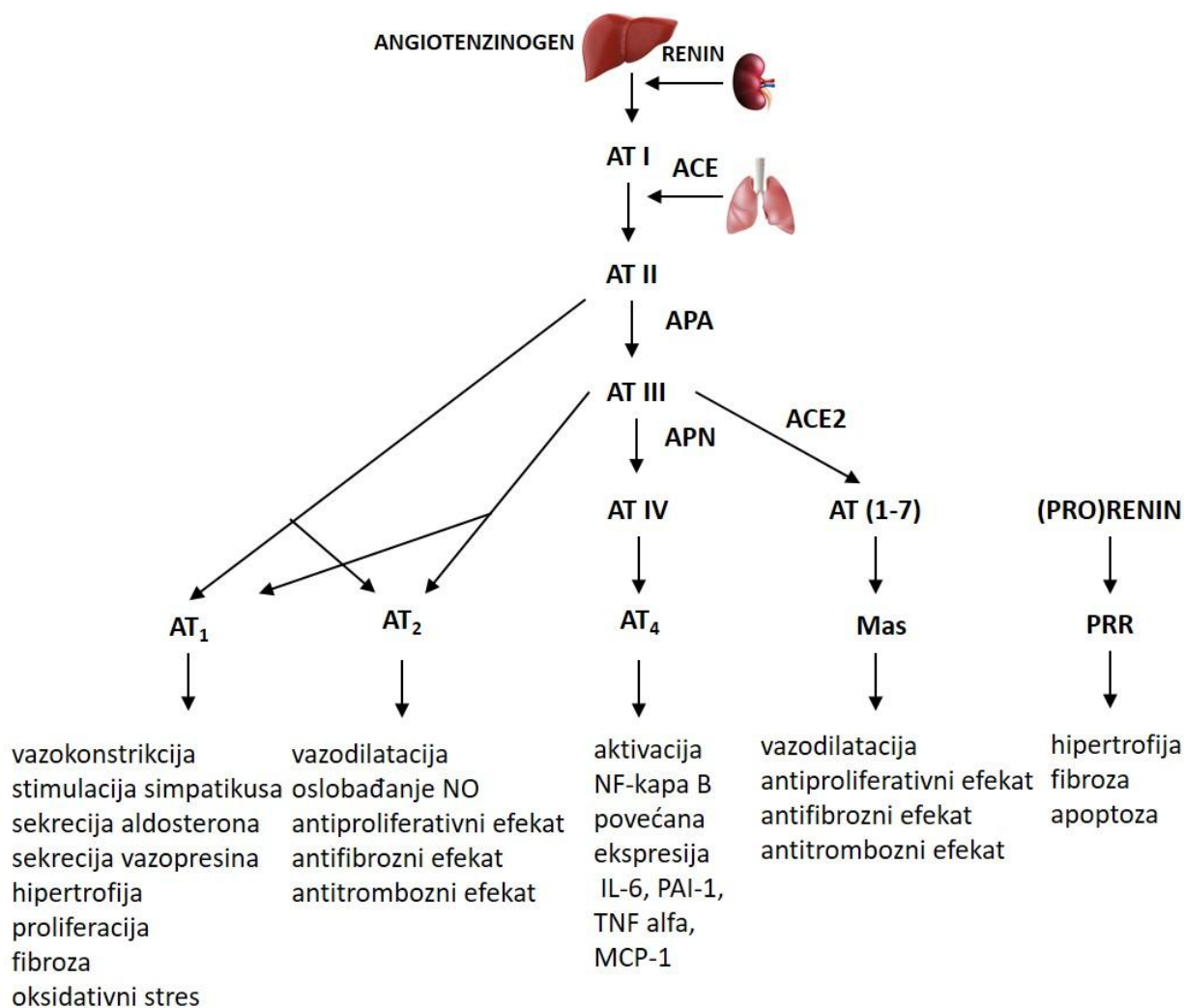


Figura 2. Klasični renin angiotenzin sistem. Angiotenzin I (AT I) nastaje u jetri dejstvom renina na angiotensinogen. Angiotenzin II (AT II) nastaje dejstvom angiotenzin konvertujućeg enzima (ACE) na AT I u plućima. AT II može delovati na angiotenzinske AT₁ i AT₂ receptore, a od njega može nastati angiotenzin III (AT III) dejstvom enzima aminopeptidase (APA). Angiotenzin III (AT III) se konvertuje u angiotenzin IV (AT IV) dejstvom aminopeptidase N (APN), ili u angiotenzin (1-7) (AT(1-7)) dejstvom angiotenzin konvertujućeg enzima 2 (ACE 2), a deluje i na AT₂ receptore. Angiotenzin IV ostvaruje ulogu delujući na angiotenzinske AT₄ receptore, angiotenzin (1-7) deluje na Mas receptore, a (pro)renin na (pro)reninske receptore. IL-6 interleukin 6, PAI-1- inhibitor aktivatora trombocita, MCP-1- monocit hemoatraktni ptein 1, TNF alfa- tumor nekrozni faktor alfa.

Angiotenzin II ostvaruje svoje efekte na perifernim organima i mozgu putem specifičnih receptora lokalizovanih u membranama ćelija i povezanih sa G proteinom. Do danas je

otkriveno 4 tipa AT receptora. AT_{1a} i AT_{1b} receptori su proteini građeni od 359 aminokiselina i odlikuje ih visok stepen homologije. Gen za AT_{1a} receptor se nalazi na hromozomu 3, dok je gen za AT_{1b} na hromozomu 2 (Allen i sar., 2000). AT₂ receptor je protein koji se sastoji od 363 aminokiselina i ima 32-34 % homologije sa AT₁ receptorima, a gen odgovoran za sintezu AT₂ receptora se nalazi na X hromozomu (Allen i sar., 2000). AT₁ i AT₂ receptori pripadaju grupi transmembranskih G-protein vezanih receptora. Aktivacija AT₁ receptora dovodi do stimulacije fosfolipaze C, MAP kinaze i fosforilacije tirozina, AT₂ aktivacija dovodi do aktivacije K⁺ kanala, inhibicije MAP kinaze i protein fosfataze 2A (Allen i sar., 1999) (**Figura 3.**). AT₁ receptori se nalaze u krvnim sudovima, bubregu, srčanom mišiću, mozgu i stimulacija ovih receptora dovodi do sužavanja krvnih sudova, oslobađanja aldosterona iz nadbubrežne žlezde, retencije natrijuma i vode na nivou bubrega, remodelovanja glatkog mišićnog tkiva u zidovima krvnih sudova, stimulacije simpatičkog nervnog sistema, hipertrofije srčanog mišića (Fyhrquist i Saijonmaa, 2008). AT_{1a} i AT_{1b} receptori imaju identičnu fiziološku ulogu, razlika je u tome što AT_{1b} receptor ima manji afinitet za angiotenzin II (Lenkei i sar., 1997) i poznato je da prilikom inaktivacije AT_{1a} receptora, AT_{1b} može preuzeti njegovu ulogu u kontroli krvnog pritiska (Allen i sar., 2000). AT₂ receptori su eksprimirani u tkivu fetusa i pokazano je da imaju značaj u rastu i razviću srca i krvnih sudova (Levy, 2005). Takođe je primećeno da postoji povećana ekspresija AT₂ receptora nakon ishemije srčanog mišića i u povredama krvnih sudova, te se pretpostavlja da imaju ulogu u reparaciji i remodelovanju srca i krvnih sudova (Levy, 2005). AT₂ receptori zajedno sa B2 bradikininskim receptorima formira heterodimere koji dovode do NO produkcije i vazodilatacije (Abadir i sar., 2006). AT₁ i AT₂ receptori mogu biti stimulisani i dejstvom angiotenzina III koji nastaje delovanjem aminopeptidaze A na angiotenzin II. Angiotenzin IV nastaje katalitičkim delovanjem aminopeptidaze N na AT III i ima ulogu u kardiovaskularnim oštećenjima, kao i u metabolizmu glukoze u mozgu koju ostvaruje delujući na AT₄ receptore (Farag i sar., 2017). Angiotenzin (1-7) nastaje od AT II dejstvom ACE2 i aktivira Mas receptore. Himaze su odgovorne za produkciju AT II u oštećenom vaskularnom tkivu. Prorenin i renin aktiviraju (Pro)reninski receptori koji imaju ulogu u fibrozi i hipertrofiji tkiva srca, krvnih sudova i bubrega (Fyhrquist i Saijonmaa, 2008).

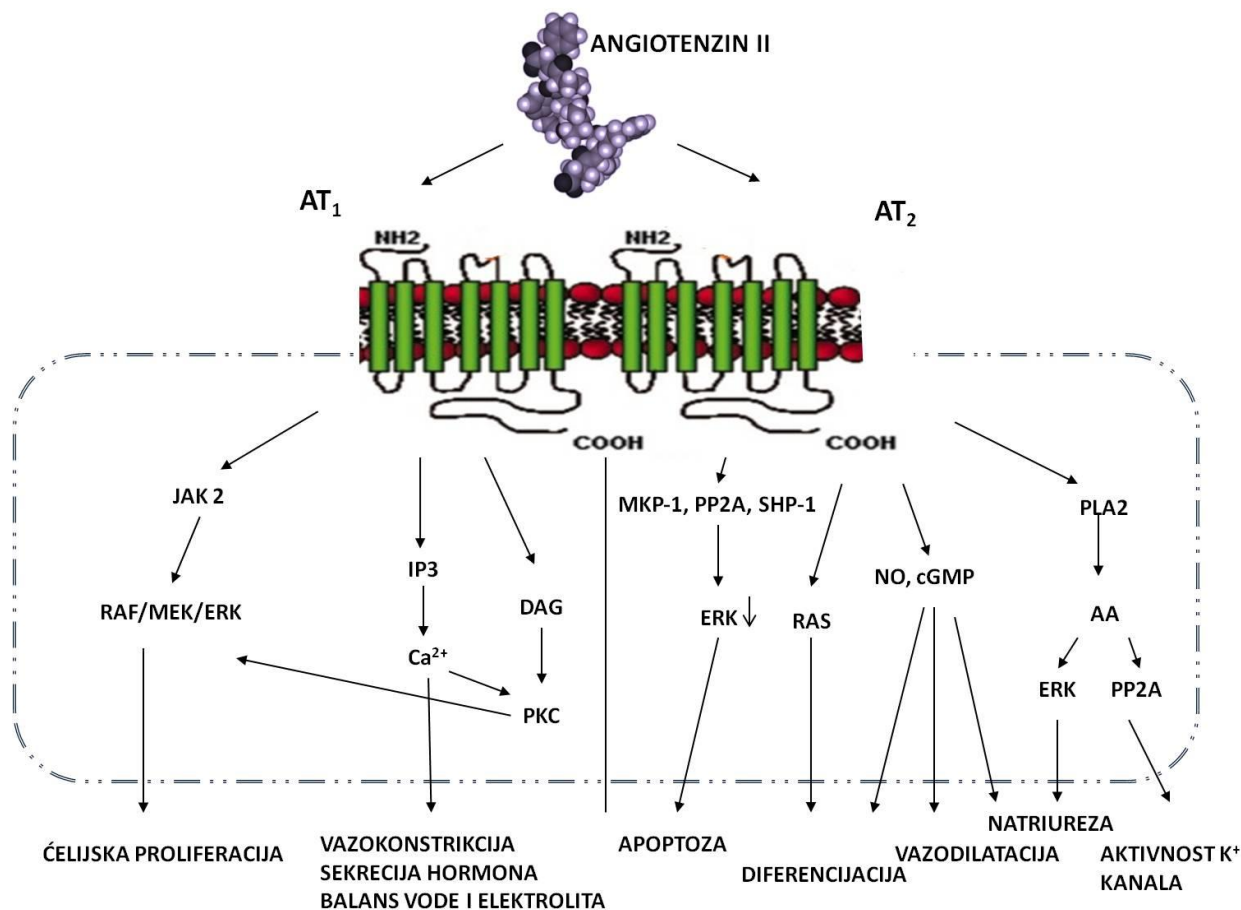


Figura 3. Signalni putevi angiotenzinskih AT₁ i AT₂ receptora. PKC- protein-kinaza C, IP₃- inositol-(3)-fosfat, DAG- diacilglicerol, JAK2- Janus kinaza 2, RAF/MEK/ERK- kinaze, PP2A- protein fosfataza 2A, cGMP-ciklični guanozin monofosfat, NO- azot-(II)-oksid, PLA₂- fosfolipaza A2, MKP-1- mitogen- aktivirajuća protein kinaza fosfataza 1, SHP-1- fosfataza. Slika modifikovana i preuzeta sa <http://www.jimmunol.org/content/179/6/3391>, https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Angiotensin_II_1N9V.png.

1.3.2.2. Renin angiotenzin sistem u mozgu

Lokalni renin angiotenzin sistemi su identifikovani u skoro svim tkivima i organima. Ganten i saradnici (1971) su otkrili postojanje renin angiotenzin sistema u mozgu. Ima puno podataka da moždani RAS-a igra važnu ulogu u etiopatogenezi hipertenzije (Campbell i sar., 1995) i hronične srčane insuficijencije (DiBona i sar., 1995). Studije su pokazale da kod spontanog hipertenzivnog modela pacova povećana aktivnost RAS-a dovodi do povećanja tonusa simpatikusa i smanjenja funkcije BRR, a samim tim i do nastanka hipertenzije (Casto i

Philips, 1986; Berecek i sar., 1987). Centralna administracija kaptoprila ili blokada renin i angiotenzinogen ciljane informacione RNA sa *antisens* oligodeoksinukleotidima može dovesti do normalizacije krvnog pritiska spontano hipertenzivnih životinja (Boscan i sar., 2001). Ustanovljeno je da kod transgenog modela pacova koji ne stvara angiotenzinogen, postoji smanjena aktivnost simpatikusa u mozgu (Campos i sar., 2006; Carlson i Wyss, 2008), povećana senzitivnost spontanog baroreceptorskog refleksa (Baltatu i sar., 2001), smanjeno oslobađanje vazopresina (Schinke i sar., 1999; Campos i sar., 2004), smanjeno oslobađanje renina (Baltatu i sar., 2004) i smanjena sinteza melatonina koji je značajan u kontroli cirkadijalnog ritma oscilovanja krvnog pritiska (Baltatu i sar., 2004; Campos i sar., 2004). Glavna komponenta moždanog RAS-a za koju se smatra da ima ulogu u neurogenoj hipertenziji je angiotenzin II (Young i Davisson, 2015). Izvor angiotenzinogena u mozgu su astrociti. Peptidi AT III, IV, AT (1-7) takođe imaju ulogu u regulaciji cirkulacije, ali i u kognitivnim procesima u mozgu (Fyhrquist i Saijonmaa, 2008). Pokazano je da angiotenzin III i IV u mozgu stimulišu AT₁ receptore i dovode do porasta krvnog pritiska (Dupont i Brouwers, 2010). Takođe, stimulacija (pro)reninskih receptora ima ulogu u nastanku neurogene hipertenzije (Shan i sar., 2010). Novija istraživanja svedoče o postojanju angiotenzina (1-7), angiotenzin konvertujućeg enzima tip 2 i Mas receptora u jedrima odgovornim za neurogenu kontrolu cirkulacije (prvenstveno NTS i PVN). Smatra se da disbalans između moždanog AT I i AT (1-7) ima ulogu u kardiovaskularnim oboljenjima (Ferrario, 2011).

Imunohistohemijske studije su pokazale da je endogeni AT II prisutan u *nucleus tractus solitarius*-u i pretpostavlja se da ima ulogu u modulaciji funkcije BRR (Healy i sar., 1984; Casto i Philips, 1984). Receptori angiotenzina II, AT_{1a}, AT_{1b} i AT₂ identifikovani su u centralnom nervnom sistemu uključujući i *nucleus tractus solitarius* (De Kloet i sar., 2015). Farmakološkom modulacijom dejstva ovih receptora u *nucleus tractus solitarius*-u pokazano je da dolazi do pomene osetljivosti barorefleksa. Tako, na primer, mikroinjekcija angiotenzina II u *nucleus tractus solitaries* smanjuje osetljivost barorefleksa (Casto i Phillips, 1986), dok blokada AT₁ receptora ima suprotan efekat (Matsumura i sar., 1998). Poznato je da postoji povećana gustina AT₁ receptora u NTS-u spontano hipertenzivnih pacova (Gutkind i sar., 1988). Brouwers i sar. (2015) su pokazali da selektivna stimulacija centralnih AT₂ receptora, nakon intracerebroventrikularne administracije agoniste AT₂ receptora, povećava osetljivost baroreceptorskog refleksa i smanjuje tonus simpatikusa prema periferiji (Gao i

Zucker, 2011). Takođe je pokazano da hiperekspresija AT₂ receptor u NTS-u i dorzalnom motornom jedru vagusa dovodi do povećanja osetljivosti baroreceptorskog refleksa kod SH pacova (Ruchaya i sar., 2016).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj našeg istraživanja je da ispitamo uticaj stalnog magnetnog polja srednjeg intenziteta na:

1. gensku ekspresiju angiotenzinskih AT_{1a}, AT_{1b} i AT₂ receptora u *nucleus tractus solitarius*-u spontano hipertenzivnih pacova kontinuirano izloženih dejstvu stalnog magnetnog polja srednjeg intenziteta.
2. srednju vrednost sistolnog i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska, srčane frekvencije, njihov varijabilitet kao i osetljivost baroreceptorskog refleksa spontano hipertenzivnih pacova koji su kontinuirano izloženih dejstvu stalnog magnetnog polja.
3. oštećenje perifernih organa: srce i bubreg kod spontano hipertenzivnih pacova kontinuirano izloženih dejstvu stalnog magnetnog polja srednjeg intenziteta.
4. vrednost hematoloških parametara periferne krvi i celularnost u hematopoetskim organima (slezina i koštana srž) kod spontano hipertenzivnih pacova kontinuirano izloženih dejstvu stalnog magnetnog polja srednjeg intenziteta.

3. MATERIJAL I METODE

Eksperimentalni protokol je dobio dozvolu (br.323-07-04083/2016-05/3) Etičkog komiteta za životinje Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

4.1. ŽIVOTINJE

Eksperimenti su izvedeni na pedeset jednom (n=51) spontano hipertenzivnom pacovu (Charles Rivers, Nemačka), starosti 12 nedelja, telesne mase 260-300g. Životinje su ispoljavale normalno ponašanje (uzimanje hrane, vode, lična higijena i dr. aktivnosti) i bile smeštene u kaveze pod standardnim laboratorjiskim uslovima (temperatura $21 \pm 2^\circ$ C, relativna vlažnost vazduha 55-65% i 12/12 časova noćno/dnevnog osvetljenja). Tokom kontinuirane ekspozicije SMP-u različite orijentacije pacovi su bili smešteni u kavezima (42x27x18cm) (Techniplast, Varese, Italija) u grupi od po 4 životinje. Nakon hirurške intervencije pacovi su smešteni u pojedinačne kaveze od pleksiglasa (30x30x30cm). Broj životinja po grupi je određen pomoću programa “Power and Sample Size Calculations” (<http://ps-power-and-sample-size-calculation.software.informer.com/>). Nakon registrovanja hemodinamskih parametara životinje su žrtvovane (*Euthasol*; 150mg/kg i.p.; Richter Farma, Austrija), uzeta je krv za analizu krvne slike i određivanje koncentracije noradrenalina u krvnoj plazmi, bubreg i srce za histopatološku analizu, slezina i koštana srž iz golenjače za analizu celularnosti, a mozgovi su uzeti za analizu genske ekspresije angiotenzinskih AT_{1a}, AT_{1b} i AT₂receptora.

4.2. EKSPERIMENTALNI PROTOKOL

Spontano hipertenzivni pacovi su randomizirani u 3 eksperimentalne grupe. Prva grupa (n=17) je 30 dana kontinuirano bila izložena dejstvu stalnog magnetnog polja orijentisanog prema Severnom polu, a druga grupa (n=17) je bila kontinuirano izložena dejstvu stalnog magnetnog polja orijentisanog prema Južnom polu. Stalno magnetno polje je napravljeno od 6 MADU traka (Institut Mihajlo Pupin, Beograd; patent n° YU 48907/02, RS IPO; and patent n° WO 99/60581, World Intellectual Property Organization, Brussels, Belgija) koje su postavljene ispod kaveza od pleksiglasa u kojem se nalazi 4 pacova (**Slika 2.**). Intenzitet

stalnog magnetnog polja kojeg proizvode MADU trake je 16mT sa gradijentom od 10 mT/cm (Djordjevich i sar., 2012). Kontrolna grupa od 17 spontano hipertenzivnih pacova je bila u istim laboratorijskim uslovima bez izlaganja MADU trakama, ali pod neizbežnim dejstvom stalnog magnetnog polja Zemlje (u Beogradu inteziteta 0.048 mT i inklinacije 61°44'). Nakon 30 dana kontinuirane ekspozicije stalnom magnetnom polju registrovani su hemodinamski parametri spontano hipertenzivnih pacova.



Slika 2. Prikaz izvora stalnog magnetnog polja u laboratoriji. Šest komada spojenih magnetnih traka (panel levo). Kavez sa spontano hipertenzivnim pacovima na magnetnim trakama (panel desno).

4.3. EVALUACIJA GENSKE EKSPRESIJE ANGIOTENZINSKIH AT_{1A} , AT_{1B} I AT_2 RECEPTORA U NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS-u

4.3.1. Uzorkovanje i priprema tkiva za analizu

Nakon eksperimenta žrtvovanim životinjama su izvađeni mozgovi, smrznuti pomoću tečnog azota (Messer, Beograd, Srbija) i uskladišteni na -80°C .

4.3.2. Homogenizacija tkiva

Svaki uzorak moždanog tkiva je isečen na kriostatu (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) na isečke debljine $60\ \mu\text{m}$ i iz njih je izolovan *nucleus tractus solitarius*. pomoću tkivnog noža

puncher-a. Uzorci su dalje homogenizovani na ledu hemijskim i mehaničkim putem u 500 μ L TRIzol rastvora (Life Technologies, Carlsbad, SAD) pomoću homogenizatora Sonopuls UW 2070 (Bandelin, Berlin, Nemačka) u 3-4 periodična ciklusa u trajanju od 1 min sa amplitudom od 15-20 % kako bi se izbegla razgradnja ribonukleinske kiseline (RNK) usled oslobođene toplote.

4.3.3. Izolacija ukupne ribonukleinske kiseline

Ukupna RNK je iz homogenizovanog tkiva izolovana pomoću 100 μ L hloroforma (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Nemačka). Uzorci su centrifugirani (Labnet International, Inc., New Jersey, SAD) na 12000 rpm obrtaja na +4°C tokom 15 min, a dobijeni nadtalozni koji su sadržali ukupnu RNK su premešteni u nove epruvete (Isolab, Wertheim, Nemačka). RNK je dalje precipitirana tako što je u svaki uzorak dodato 250 μ L 2-propranola (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Nemačka). Uzorci su kratko promešani, inkubirani 10 min na 25°C, a potom centrifugirani na +4°C, 12000 rpm tokom 15 min. Nakon uklanjanja nadtaloga RNK je prečišćena pomoću 500 μ L 70% rastvora etanola (Zorka farma, Šabac, Srbija) tokom petominutnog centrifugiranja na +4°C, 7500 rpm. Nadtalog je uklonjen iz svakog uzorka i izolovana RNK je rastvorena u vodi bez ribonukleaza (Qiagen, Hilden, Nemačka). Uzorci izolovane RNK su tokom 10 min inkubirani na 55°C u termobloku (BioSan, Riga, Letonija), a potom uskladišteni na -80°C. Kvalitet i koncentracije ukupne RNK su za svaki uzorak određene čitanjem apsorbance na 360 nm pomoću *BioSpec-nano* aparata (Shimadzu, Kyoto, Japan).

4.3.4. Sinteza komplementarne deoksiribonukleinske kiseline

Komplementarna DNK (cDNK) je sintetisana iz 100 ng/ μ L RNK pomoću komercijalno dostupnog kita (Qiagen, Hilden, Nemačka) prema uputstvu proizvođača. Genomska DNK (gDNK) je uklonjena iz uzoraka tokom 2 min na 42°C pomoću mešavine gDNK pufera i RNase-free vode koja ne sadrži ribonukleaze. Reakcija reverzna transkripcije se odvijala pomoću mešavine enzima reverzne transkriptaze, nukleotida (dNTPs) i pufera na 42°C tokom 30 min, a potom je reakcija prekinuta inkubiranjem uzoraka na 95°C tokom 3 min. Komplementarna DNK je čuvana na +20°C.

4.3.5. Lančana reakcija umnožavanja polimerazom praćenu u stvarnom vremenu (RT- qPCR)

Relativna genska ekspresija angiotenzinskih AT_{1a}, AT_{1b}, AT₂ receptora je analizirana na Applied Biosystems ViiATM 7 RT-qPCR sistemu (Foster City, CA, SAD). Prajmeri (Invitrogen, Pacle, Velika Britanija) za gene angiotenzinskih AT_{1a}, AT_{1b} i AT₂ receptora su dizajnirani u Primer Express programu (verzija 3.0.1., Thermo Fisher Scientific, Foster City, SAD), a sekvence prajmera za *housekeeping* gen Rpl19, koji sintetiše 60S ribozomalni protein L19 su pruzete iz rada Lozić i saradnici (2016) (**Tabela 1**).

Tabela 1. Prikaz prajmera za gene angiotenzinskih AT_{1a}, AT_{1b}, AT₂ receptora i karakteristike njihovih RT-qPCR produkata.

gen	Prajmeri	temperatura topljenja	veličina produkta	genebank correspondance
Rpl19	Fwd: 5'-GCGTCTGCAGCCATGAGTA-3'	70	200	NC_005109.4
	Rev: 5'-TGGCATTGGCGATTTTCGTTG-3'	68		
AT1a	Fwd:5'-GCCAGGGCAGCCTCTGA-3'	71	60	NC_005116.4
	Rev: 5'-TCCTGAGGCAGGGTGAATG-3'	70		
AT1b	Fwd: 5'-CCTCCGCCGCACGAT-3'	67	56	NC_005101.4
	Rev: 5'-CCATTAGCCAGATGATGATGCA-3'	69		
AT2	Fwd: 5'-ACAGAATTACCCGTGACCAAGTC-3'	72	74	NC_005120.4
	Rev: 5'-GGGAAGCCAGCAAATGATGA-3'	68		

Fwd (*forward*)- uzvodni prajmer, Rev (*reverse*)- nizvodni prajmer

Triplikati svakog uzorka su umnoženi na mikropločama sa 96 raspoloživih bunara (Foster City, CA, SAD). Svaki bunar je sadržao 1 µL cDNK i 11 µL *Power SYBR Green PCR Master Mix* (Applied biosystems, Warrington, UK), koji predstavlja mešavinu termostabilne DNK polimeraze, nukleotida (dNTPs), pufera i *SYBR green* boje. Ploče su prekrivene zaštitnom folijom (Foster City, CA, Velika Britanija), a zatim su uzorci centrifugirani 30s, 2500 rpm na *Mini plate spinner* uređaju (Labnet International, Inc., New Jersey, SAD) kako bi se uklonili mehurići vazduha. Temperaturni protokol reakcije lančanog umnožavanja DNK

je bio sledeći: denaturacija cDNK (50°C- 2 min, 95°C- 10 min), 40 ciklusa umnožavanja cDNK (95°C- 15 s, 60°C- 1 min), analiza krive topljenja (95°C- 15 s, 60°C- 1 min, 95°C- 15 s). Relativna genska ekspresija je analizirana u Applied Biosystems ViiA7™ RT-qPCR softveru i određena $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodom (Lozić i sar., 2016). Ct predstavlja vrednost pragovnog ciklusa, $\Delta Ct = Ct$ ispitivani (*target*) gen - Ct kontrolni (*housekeeping*) gen, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ uzorka- ΔCt kontrole.

4.4. REGISTRACIJA I ANALIZA HEMODINAMSKIH PARAMETARA

Životinjama je u kratkotrajnoj opštoj anesteziji (*Xylazine*, 2%; 10 mg/kg i.p. i *Ketamine*, 10%; 90 mg/kg; i.p.) ugrađen kateter u desnu femoralnu arteriju (OD = 0.90, ID = 0.58, Smiths Medical International Ltd, Kent, Velika Britanija) i eksternalizovan u interskapularnoj regiji. Nakon oporavka iz opšte anestezije (24-48h) arterijski krvni pritisak je registrovan na poligrafu (Isotec™, Hugo Sachs, Freiburg, Nemačka). Eksperimenti su izvođeni u periodu između 11 časova ujutro i 14 časova popodne u mirnom okruženju, 1 sat nakon adaptacije na povezivanje arterijskog katetera za transdjuser i fiziograf. Nakon perioda adaptacije arterijski krvni pritisak registrovan je u kontinuitetu 30 minuta i digitalizovan na 1000 Hz. Sistolni arterijski pritisak (SAP), dijastolni arterijski pritisak (DAP), pulsni interval (PI) i srčana frekvencija (SF) su računati iz arterijskog pulsog talasa kao maksimum, minimum, interval između dva maksimuma i $60 / \text{pulsni interval}$. SAP, DAP PI i SF su podsemplovani na 20 Hz i provučeni kroz *Hanning-ove* filtere. Pre analize izvršeno je i uklanjanje linearnog trenda SAP, DAP, PI i SF signala.

4.4.1. Spektralna analiza arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije

Spektri su dobijeni korišćenjem algoritma brze *Fourier-ove* transformacije u vremenskim nizovima oscilacija arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije sa Nyquist-ovom frekvencijom od 10 Hz. Spektar kroz vreme je generisan sa 30 pojedinačnih spektara od 2048 tačaka sa preklapanjem i fiksnim vremenskim pomerajem od 211 tačaka ($211 \times 0.05 \text{ s} = 10.55 \text{ s}$) i analiziran je na segmentu signala od 8192 tačke ili 410 sekundi (Milutinović i sar. 2006; Stojičić i sar., 2006). Spektri sistolnog, dijastolnog arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije su analizirani do 3 Hz u celom spektru (totalni volumen; $TV=0.00976-3 \text{ Hz}$) i u

njegove tri zone: veoma niskih frekvencija (*very low frequency*; VLF=0.00976-0.195 Hz), niskih frekvencija (*low frequency*; LF=0.195–0.8 Hz) i visokih frekvencija (*high frequency*; HF=0.8–3 Hz) (**Figura 4.**). LF/HF index je izračunat, ovaj index je pokazatelj simpato-vagalnog balansa u srcu (Japundžić-Žigon, 1998).

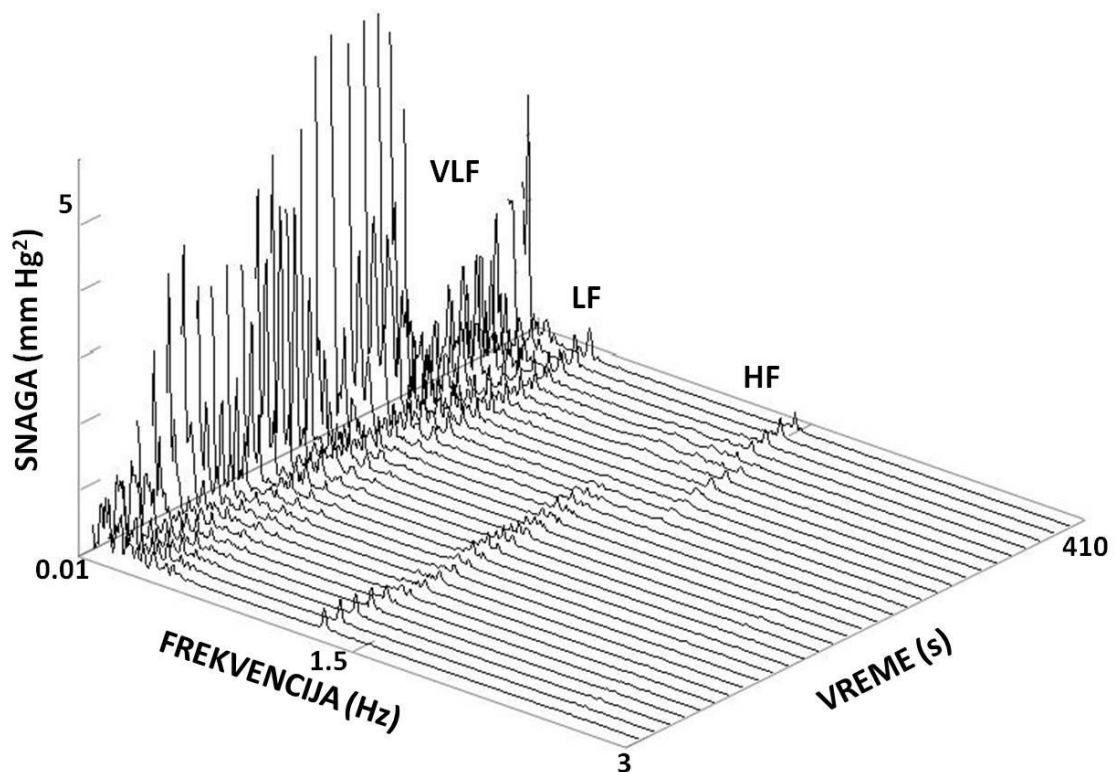


Figura 4. Prikaz spektra arterijskog krvnog pritiska i njegovih komponenti. VLF (*very low frequency*)- zona veoma niskih frekvencija, LF (*low frequency*)- zona niskih frekvencija , HF- (*high frequency*)- zona visokih frekvencija.

4.4.2. Evaluacija spontanog baroreceptorskog refleksa

Spontani baroreceptorski refleks je analiziran metodom sekvence (Bajić i sar., 2010). Jednom sekvencom smatra se niz od najmanje 4 uzastopno rastuće/opadajuće vrednosti sistolnog arterijskog krvnog pritiska sa 4 uzastopno rastuće/opadajuće vrednosti pulsno intervala pomerene za 3, 4 i 5 otkucaja u odnosu na sistolni arterijski krvni pritisak. Spontani baro-

receptorski refleks je analiziran na signalu pulsno talasa duzine 409.6 sekundi i opisan je pomoću parametara na **Figuri 5**.

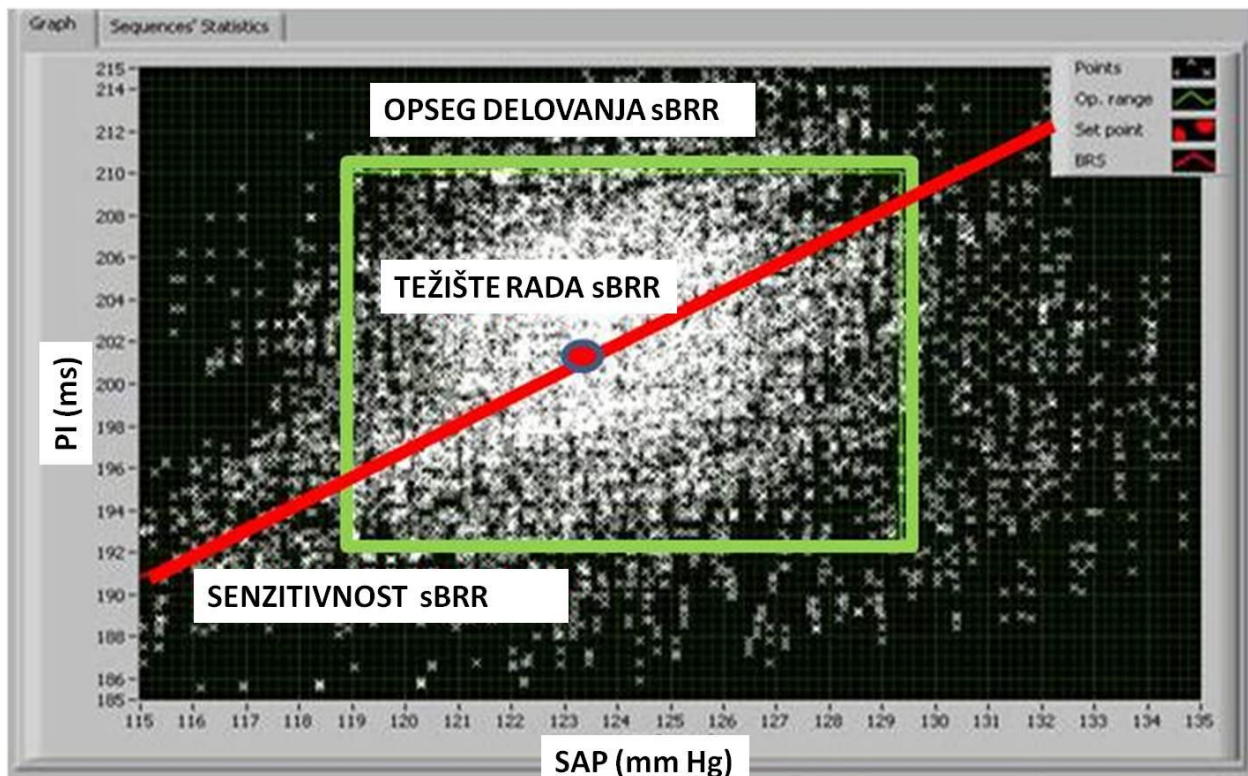


Figura 5. Prikaz softvera BP complete i procena funkcije spontanog baroreceptorskog refleksa. SENZITIVNOST SPONTANOG BARORECEPTORSKOG REFLEKSA [ms/mmHg] predstavlja srednji linearni regresioni koeficijent od svih identifikovanih sekvenci (pulsni interval = senzitivnost barorefleksa · sistolni krvni pritisak + const, podešavanje krive izvršeno metodom najmanjih kvadrata). OPSEG DELOVANJA SPONTANOG BARORECEPTORSKOG REFLEKSA [ms·mmHg] predstavlja pravougaonu površinu koja obuhvata 95% SAP-PI parova. TEŽIŠTE RADA SPONTANOG BARORECEPTORSKOG REFLEKSA predstavlja medijanu svih parova sistolnog krvnog pritiska [mmHg] i pulsno intervala [ms]. SAP- sistolni arterijski krvni pritisak. PI- pulsni interval.

4.5. HISTOPATOLOŠKA ANALIZA SRCA I BUBREGA

Žrtvovanim životinjama je uzet desni bubreg i leva srčana komora koji su potom fiksirani 48 časova u 4% formalinu. Tkivo srca i bubrega je nakon fiksacije isprano u destilovanoj vodi, a zatim postepeno dehidrirano prenosom kroz seriju alkohola (Zorka farma, Šabac, Srbija) sa rastućom koncentracijom (70%, 96% i 100%). Proces dealkoholizacije tkiva je izvršen u tkivnom procesoru pomoću ksilola (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) sve do jasnjenja tkiva. Dealcoholisano tkivo je impregnirano parafinom (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) u dispenzeru (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) i na mikrotomu (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) su napravljeni parafinski rezovi debljine 4 μ m. Isečeno tkivo je deparafinizirano u ksilolu, a potom preneseno kroz seriju alkohola sa opadajućom koncentracijom (100%, 96% i 70%) i vodu kako bi se odstranio preostali ksilol iz tkiva. Tkivni isečci su obojeni standardnom *Hematoxylin & Eosin* (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) metodom kao i specijalnim bojenjem *Masson trichrome* (Leica Microsystems, Wetzlar, Nemačka) koje pokazuje prisustvo fibroze i skleroze u tkivu. Obojeni preparati su pregledani svetlosnim mikroskopom (Leica Microsystems Wetzlar, Nemačka) i analizirano je prisustvo promena koje su karakteristične za hipertenziju. Tako je na arterijama manjeg kalibra u bubregu posmatrano prisustvo fibroze medije arterija, hijalinoze intime, perivaskularne fibroze, fibroze intersticijuma bubrega kao i procentualna zastupljenost sklerotičnih bubrežnih glomerula. Takođe je analizirano prisustvo hipertrofije srčanih mišićnih ćelija i promena na krvnim sudovima.

4.6. KVANTITATIVNA ANALIZA NORADRENALINA U KRVNOJ PLAZMI

Nakon završene registracije hemodinamskih parametara životinjama je uzeto 2-3ml krvi za analizu kroz kateter iz desne butne arterije. Uzorci krvi su centrifugirani 10min, 4000 rpm, na temperaturi +25°C, nakon čega je odvojeno iz svakog uzorka po 300 μ l krvne plazme za analizu. Koncentracija noradrenalina, izražena u pg/ml je određena prema uputstvu proizvođača pomoću sistema *Fast Track enzyme immunoassay* (3-CAT ELISA ^{Fast Track}, LDN[®], Nordhorn, Nemačka). Apsorbanca je očitana na 450 nm pomoću *START FAX 303* (Awareness Technology, Inc., Palm City, SAD).

4.7. ANALIZA HEMATOLOŠKIH PARAMETARA U PERIFERNOJ KRVI

Krvna slika je određena korišćenjem aparata ABX Pentra 80X (Montpellier, Francuska) prema uputstvu proizvođača. Određen je apsolutni broj eritrocita, leukocita (limfocita, neutrofila, bazofila, eozinofila) i trombocita; hemoglobin, hematokrit, volumen eritrocita (MCV), količina hemoglobina u eritrocitu (MCH), koncentracija hemoglobina u zapremini eritrocita (MCHC), širina distribucije eritrocita (RDW), volumen trombocita (MPV).

4.8. ANALIZA CELULARNOSTI SLEZINE I KOŠTANE SRŽI

Slezina i golenjača su uzete nakon žrtvovanja životinja. Tkivo slezine i koštana srž su homogenizovani u 1 ml fiziološkog rastvora protiskivanjem kroz ćelijsko sito (KDL, Anping, Kina) kako bi se stvorila ćelijska suspenzija. Razmazi ćelija slezine i koštane srži su obojeni po metodi *May Grunwald- Giemsa* (Carlo Erba, Rodano, Italija). Ukupna celularnost slezine i koštane srži je određena u komori za brojanje ćelija (Fein-Optik, Jena, Nemačka) i izražena je kao broj ćelija po mikrolitru homogenizovanog tkiva. Takođe je određena procentualna zastupljenost pojedinih loza krvnih ćelija (eritrocita, granulocita, limfocita i trombocita) u odnosu na ukupan broj ćelija u slezini i koštanoj srži.

4.9. STATISTIKA

Rezultati su prikazani u grafikonima i tabelama kao srednja vrednost \pm standardna greška. Statistička značajnost između eksperimentalnih grupa je određena jednofaktorskim ANOVA testom i *post hoc Fischer LSD* testom u SPSS softveru (verzija 10.0, Chicago, IL, SAD). Statistički značajnim se smatraju promene vrednosti za verovatnoću manju od 0.05.

4. REZULTATI

5.1. DEJSTVO SMP-a NA GENSKU EKSPRESIJU ANGIOTENZINSKIH AT_{1a} , AT_{1b} , AT_2 RECEPTORA U NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS-u

Istraživanje je pokazalo da postoji značajno povećana relativna ekspresija gena angiotenzinskih AT_{1b} receptora, dok je relativna ekspresija gena angiotenzinskih AT_2 receptora u *nucleus tractus solitarius*-u smanjena kod SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a u odnosu na kontrolne životinje (**Figura 6.**). Takođe postoji značajno smanjenje relativne genske ekspresije angiotenzinskih AT_{1b} receptora u *nucleus tractus solitarius*-u između životinja koje su bile izložene dejstvu severnog pola u odnosu na južni pol magneta (**Figura 6.**). Nema značajne razlike između eksperimentalnih grupa u relativnoj genskoj ekspresiji angiotenzinskih AT_{1a} receptora u *nucleus tractus solitarius*-u, ali postoji trend porasta relativne genske ekspresije AT_{1a} receptora SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a (**Figura 6.**).

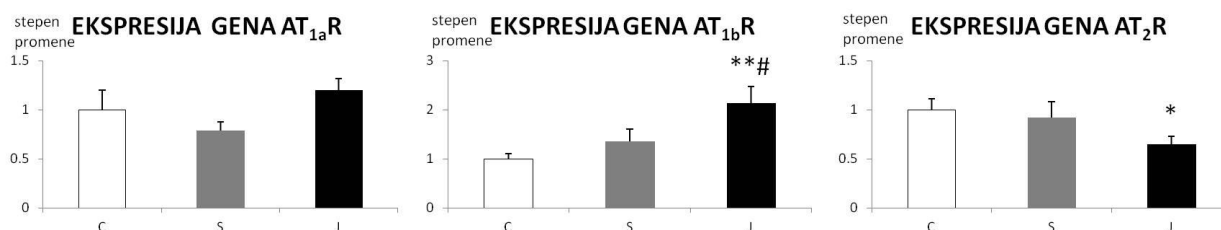


Figura 6. Stepen promene genske ekspresije angiotenzinskih AT_{1a} , AT_{1b} i AT_2 receptora SH pacova neekspoziranih i ekspoziranih dejstvu SMP-a različite orijentacije. Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP (* $p<0,05$ vs kontrolna grupa, ** $p<0,01$ vs kontrolna grupa, # $p<0,05$ vs S grupa, ## $p<0,01$).

5.2. DEJSTVO SMP-a NA ARTERIJSKI KRVNI PRITISAK I SRČANU FREKVENCIJU

Južni i severni pol stalnog magnetnog polja su kod izloženih spontano hipertenzivnih pacova doveli do sniženja srednje vrednosti arterijskog krvnog pritiska, a takođe sistolnog i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska (**Tabela 2.**). Spontano hipertenzivni pacovi izloženi dejstvu južnog pola stalnog magnetnog polja postigli su značajno smanjenje srčane frekvencije u odnosu na spontano hipertenzivne pacove koji su samo bili izloženi dejstvu stalnog magnetnog polja Zemlje (**Tabela 2.**). Severni pol SMP-a nije uticao na srčanu frekvenciju eksponiranih spontano hipertenzivnih pacova.

Tabela 2. Hemodinamski parametri neeksponiranih i eksponiranih SH pacova dejstvu SMP-a različite orijentacije

	C grupa	S grupa	J grupa
SAP (mm Hg)	195 ± 2.7	179 ± 4.5 **	173 ± 2.0 ***
DAP (mm Hg)	123 ± 1.7	110 ± 3.9 **	104 ± 3.1 ***
MAP (mm Hg)	147 ± 2.6	133 ± 2.4 *	127 ± 4.4 *
SF (bpm)	333 ± 6.6	318 ± 6.9	312 ± 5.3 *
BRS (ms/mm Hg)	1.2 ± 0.1	1.7 ± 0.1 **	1.4 ± 0.1 *
SAP TEŽIŠTE RADA (mmHg)	195 ± 2.9	178 ± 4.7 **	174 ± 1.9 **
PI TEŽIŠTE RADA (ms)	179 ± 3.2	187 ± 3.8	190 ± 3.2 *
OPSEG DELOVANJA (mmHg·ms)	571.4 ± 63.9	452.6 ± 66.4	440.1 ± 45.5

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. SAP- sistolni arterijski pritisak, DAP- dijastolni arterijski pritisak, MAP- srednji arterijski pritisak, BRS- senzitivnost spontanog baroreceptorskog refleksa, PI- pulsni interval. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a (*p<0.05 vs kontrolna grupa, **p<0.01 vs kontrolna grupa, ***p<0.001 vs kontrolna grupa).

5.2.1. *Dejstvo SMP-a na kratkoročni varijabilitet arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije*

Spontano hipertenzivni pacovi koji su bili izloženi dejstvu južnog pola stalnog magnetnog polja su imali niže vrednosti totalnog kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska, kao i VLF i LF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska u poređenju sa kontrolnom grupom spontano hipertenzivnih pacova (**Figura 7.**). Takođe je kod istih pacova primećeno i značajno povećanje HF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska u poređenju sa kontrolnom grupom i grupom koja je bila izložena dejstvu severnog pola magneta (**Figura 7. i 8.**). Izlaganje spontano hipertenzivnih pacova severnom polu SMP-a dovelo je do smanjenja VLF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska u odnosu na kontrolnu grupu (**Figura 7.**). Spontano hipertenzivni pacovi izloženi dejstvu stalnog magnetnog polja oba pola pokazuju tendenciju redukcije kratkoročnog varijabiliteta dijastolnog arterijskog krvnog pritiska, ali ne postoji značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (**Figura 7.**). Stalno magnetno polje nije uticalo na kratkoročni varijabilitet srčane frekvencije spontano hipertenzivnih pacova kao ni na pokazatelj simpatovagalnog balansa (LF/HF indeks) (**Figura 9.**).

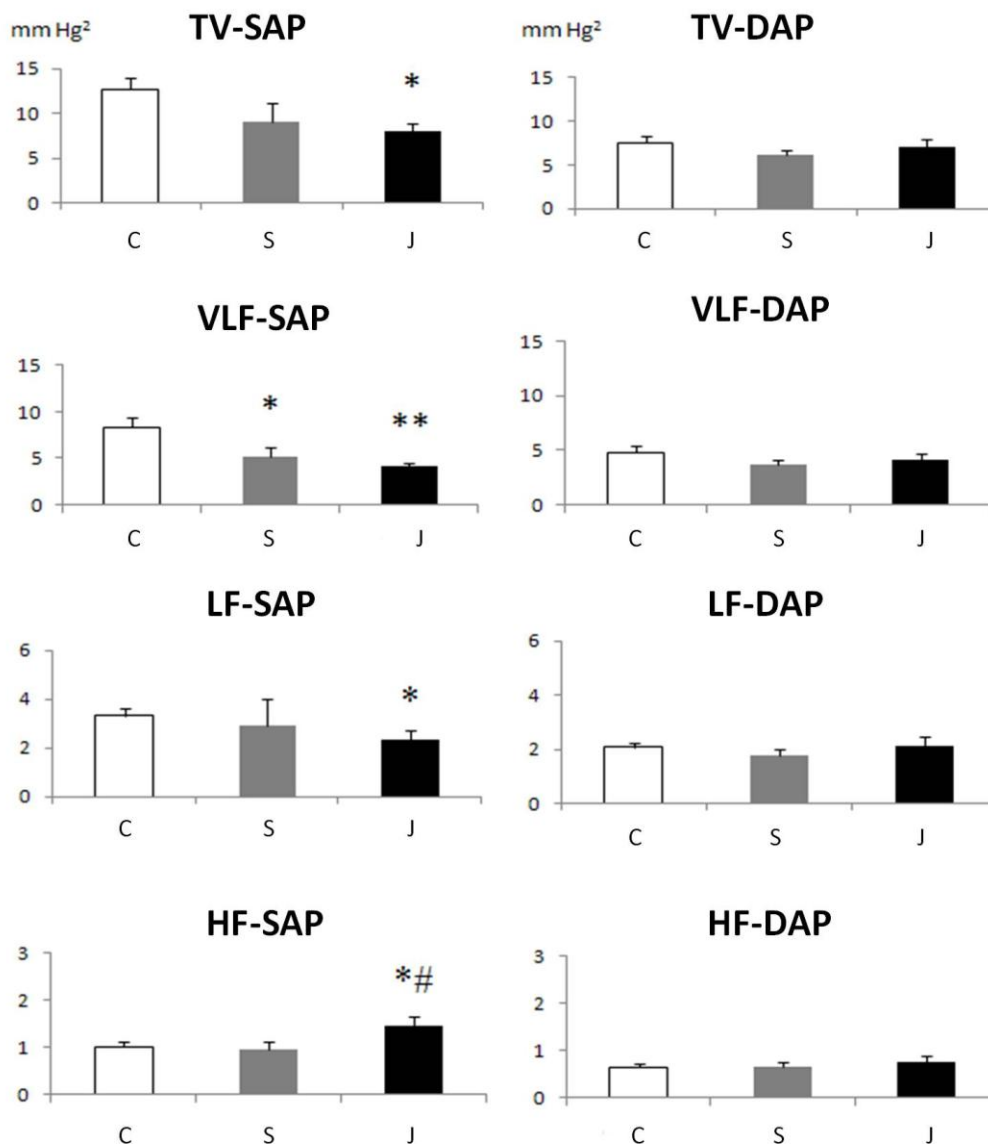


Figura 7. Efekat SMP-a različite orijentacije na kratkoročni varijabilitet SAP i DAP SH pacova. Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. VLF-SAP- very low frequency- sistolni arterijski krvni pritisak, LF-SAP low frequency- sistolni arterijski krvni pritisak, HF- SAP- high frequency- sistolni arterijski krvni pritisak, VLF-DAP- very low frequency- dijastolni arterijski krvni pritisak, LF-DAP low frequency- dijastolni arterijski krvni pritisak, HF- DAP- high frequency- dijastolni arterijski krvni pritisak, C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a (*p<0.05 vs kontrolna grupa, **p<0.01 vs kontrolna grupa, #p<0.05 vs S grupa).

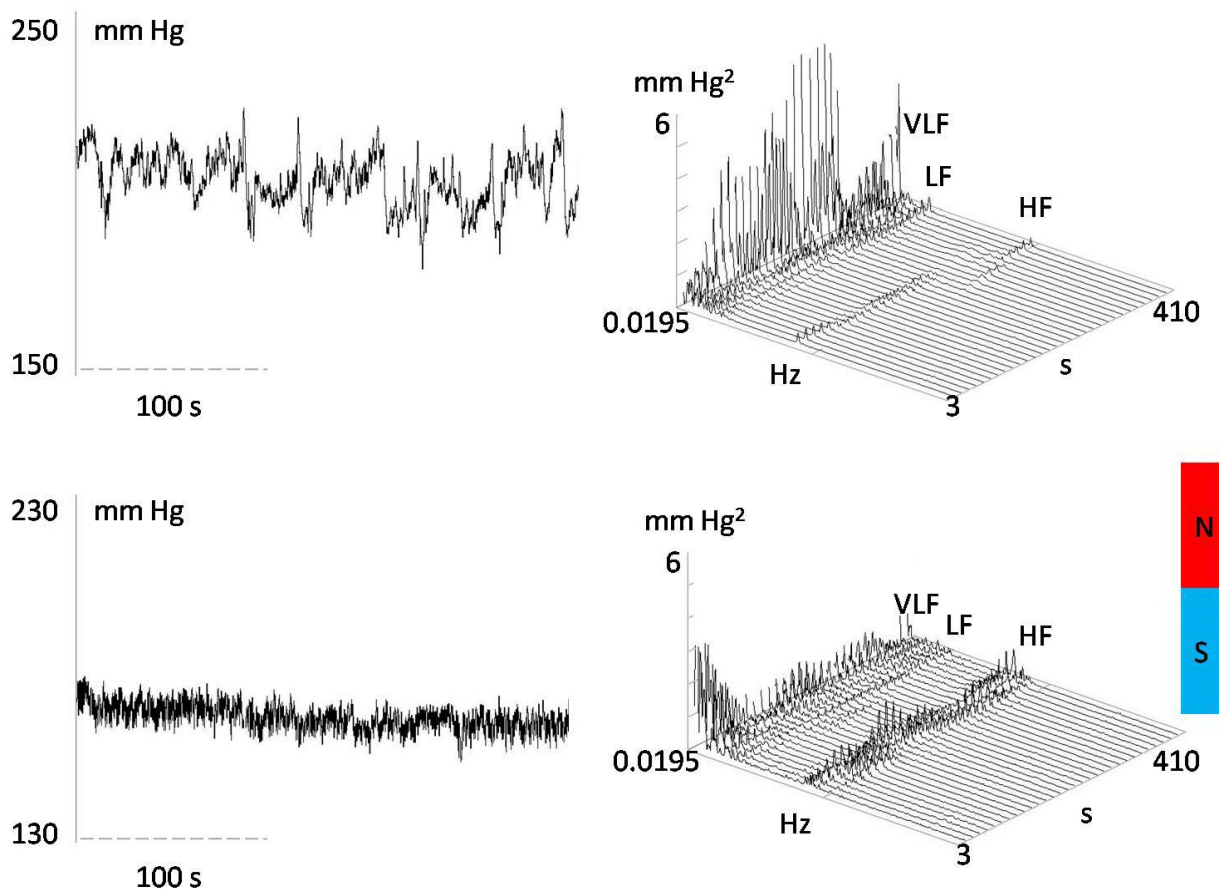


Figura 8. Tipičan snimak pritiska jednog kontrolnog SH pacova (gornji panel) i jednog SH pacova izloženog dejstvu južnog pola SMP-a (donji panel). Primetno je smanjenje VLF i LF komponenti kao i porast HF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska.

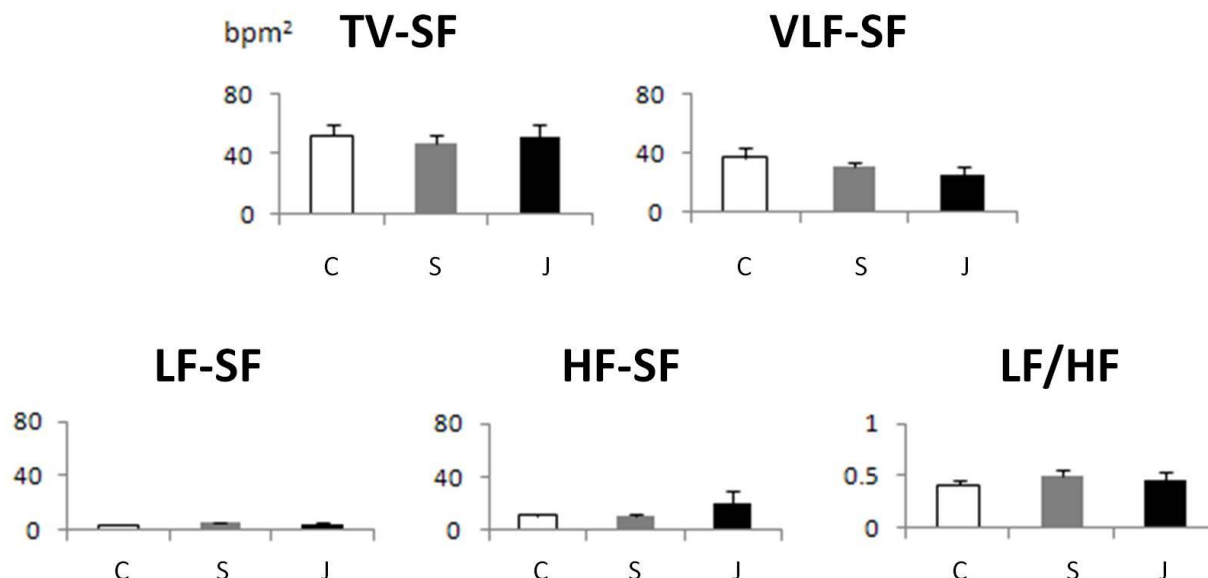


Figura 9. Efekat SMP-a različite orijentacije na kratkoročni varijabilitet SF SH pacova. Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. VLF-SF- very low frequency- srčana frekvencija, LF-SF low frequency- srčana frekvencija, HF-SF- high frequency- srčana frekvencija, LF/HF- low frequency/high frequency. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a.

5.2.2. Dejstvo SMP-a na spontani baroreceptorski reflex

SMP obe orijentacije je izazvalo značajno povećanje senzitivnosti spontanog baroreceptorskog reflexa i resetovalo ga na niže vrednosti arterijskog krvnog pritiska (**Tabela 2., Figura 10.**). Izlaganje SH pacova južnom polu SMP-a je takođe dovelo do značajnog pomeranja težišta rada spontanog baroreceptorskog reflexa ka nižim vrednostima pulsno intervala (**Tabela 2.**). Opseg delovanja spontanog baroreceptorskog reflexa nije promenjen kod SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a različite orijentacije u odnosu na kontrolne životinje (**Tabela 2.**).

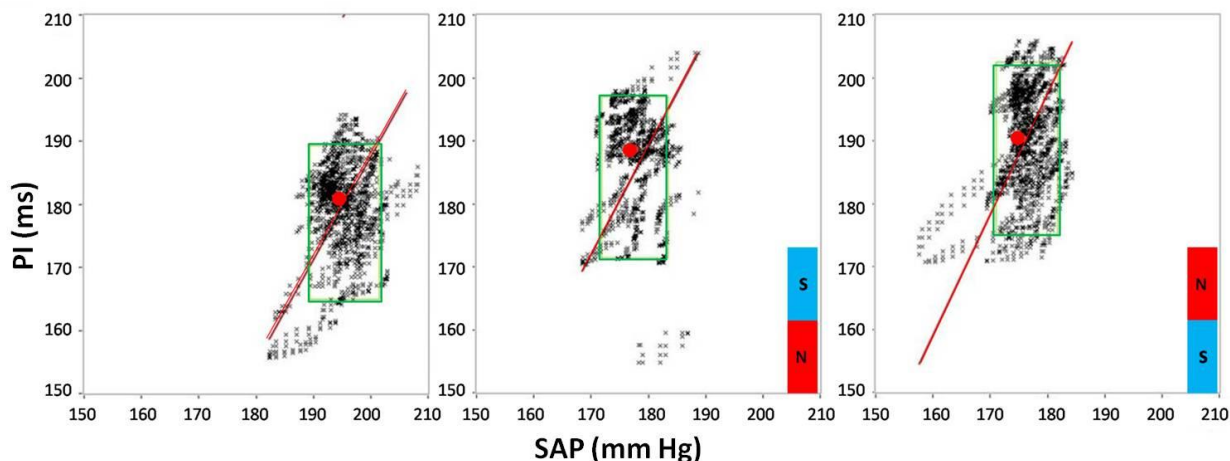


Figura 10. Efekat SMP-a različite orijentacije na baroreceptorski refleks. Primetno je da ekspozicija pacova severnom polu SMP-a (srednji panel) i južnom polu SMP-a (desni panel) povećava senzitivnost spontanog baroreceptorskog refleksa (nagib crvene linije) i resetuje sBRR na niže vrednosti SAP (crvena tačka) u odnosu na kontrolne SH pacove (levi panel). Nema promena u opsegu delovanja sBRR (zeleni pravougaonik). PI- pulsni interval, SBP- sistolni arterijski krvni pritisak.

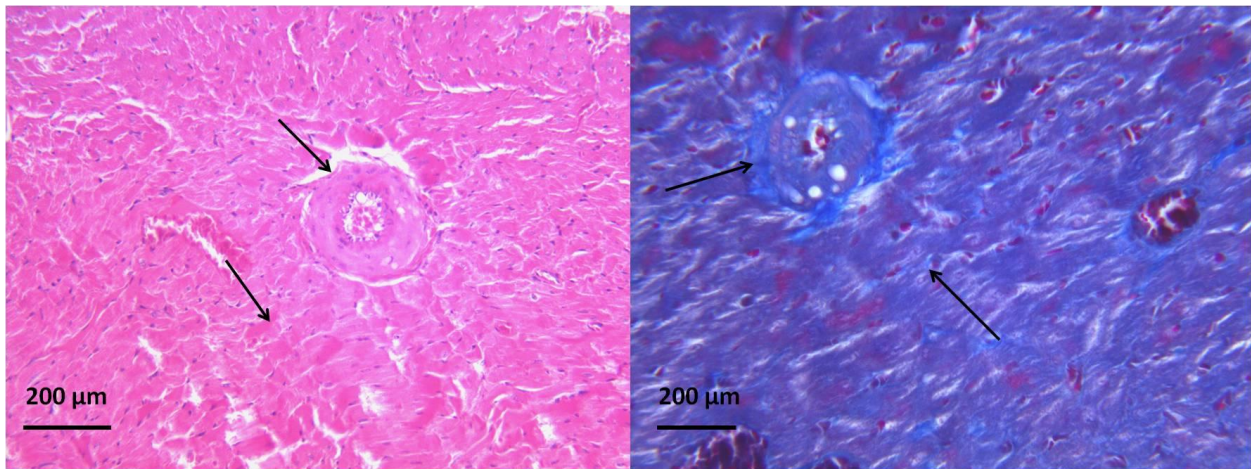
5.3. DEJSTVO SMP-a NA KONCENTRACIJU NORADRENALINA U KRVNOJ PLAZMI

Vrednost noradrenalina je bila značajno snižena u plazmi spontano hipertenzivnih pacova koji su bili izloženi dejstvu severnog (525.5 ± 31.5 pg/ml) i južnog pola stalnog magnetnog polja (544.9 ± 70.5 pg/ml) u poređenju sa spontano hipertenzivnim pacovima koji su bili izloženi samo dejstvu Zemljinog stalnog magnetnog polja (1274.1 ± 176.8 pg/ml).

5.4. DEJSTVO SMP-a NA HIPERTENZIVNU MIOKARDIOPATIJU I GLOMERULOSKLEROZU

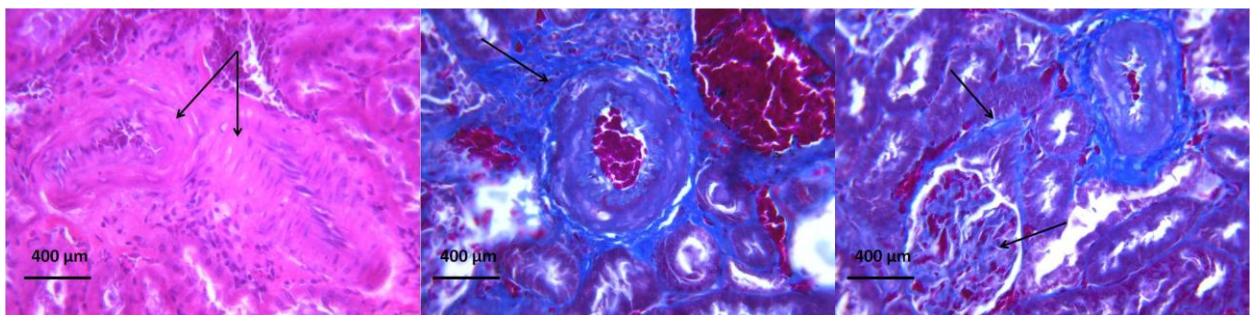
Histopatološka analiza srčanog mišića leve komore i desnog bubrega nije pokazala značajne razlike između SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a različite orijentacije i SH pacova koji su bili izloženi samo dejstvu SMP Zemlje. Na srčanom mišiću leve komore kako SH pacova izloženih dejstvu SMP-a različite orijentacije, tako i SH pacova izloženih samo

dejstvu SMP-a Zemlje uočava se izražena hipertrofija kardiomiocita, difuzna intersticijska fibroza kao i hipertrofija medije krvnih sudova manjeg kalibra (**Slika 3.**).



Slika 3. Karakteristične promene u srcu neeksponiranih i eksponiranih pacova SMP-a različite orijentacije. Levi panel: primetna je hipertrofija kardiomiocita i medije arterije manjeg kalibra (*Hematoxylin & Eosin*). Desni panel: perivaskularna i intersticijska fibroza u srčanom mišiću (*Masson trichrome*).

Istraživanje je takođe pokazalo da je u bubrezima svih SH pacova prisutna laka do umerena skleroza glomerula- do 30% sa umerenom intersticijalnom fibrozom. (**Slika 4.**). Na arterijama manjeg kalibra uočava se suženje lumena sa fibrozom medije, hijalinozom intime i perivaskularnom fibrozom.



Slika 4. Karakteristične promene u bubregu neeksponiranih i eksponiranih pacova SMP-a različite orijentacije. Levi panel: primetna je hipertrofija medije arterije manjeg kalibra (*Hematoxylin & Eosin*). Srednji panel: perivaskularna fibroza (*Masson trichrome*). Desni panel: skleroza glomerula i intersticijska fibroza u bubregu (*Masson trichrome*).

5.5. DEJSTVO SMP-a NA HEMATOLOŠKE PARAMETARE U PERIFERNOJ KRVI

Parametri krvne slike spontano hipertenzivnih pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a kao i kontrolnih pacova su prikazani u **Tabeli 3**. SH pacovi koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a imali su značajno smanjen broj limfocita, a samim tim i leukocita u odnosu na kontrolnu grupu životinja. Broj trombocita u krvi je značajno smanjen kod SH pacova koji su bili izloženi SMP-u obe orijentacije u odnosu na kontrolne pacove, s tim što je kod SH pacova izloženih dejstvu južnog pola SMP-a došlo do značajnije redukcije broj trombocita. Naši rezultati takođe pokazuju da postoji trend smanjenja broja eritrocita, hemoglobina i hematokrita SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a. Monociti, neutrofil, eozinofili, bazofili, MCV, MCH, RDW i MPV se nisu razlikovali između SMP-u eksponiranih i neeksponiranih SH pacova.

Tabela 3. Krvni parametri neekspoziranih i ekspoziranih pacova dejstvu SMP-a različite orijentacije

	C grupa	S grupa	J grupa
leukociti (10⁹/l)	8.52 ± 0.76	5.35 ± 0.61*	7.72 ± 0.96
limfociti (10⁹/l)	7.17 ± 0.68	4.13 ± 0.53*	6.16 ± 0.86
monociti (10⁹/l)	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.22	0.1 ± 0.01
neutrofili (10⁹/l)	1.21 ± 0.15	1.03 ± 0.14	1.36 ± 0.16
eozinofili (10⁹/l)	0.08 ± 0.005	0.06 ± 0.03	0.02 ± 0.009
bazofili (10⁹/l)	0.02 ± 0.005	0.04 ± 0.01	0.07 ± 0.03
eritrociti (10¹²/l)	8.01 ± 0.41	6.79 ± 0.7	6.19 ± 0.56
hemoglobin (g/l)	129.2 ± 6.30	110.83 ± 11.22	101.47 ± 9.05
hematokrit (l/l)	0.40 ± 0.02	0.35 ± 0.04	0.31 ± 0.03
MCV (fl)	50.33 ± 0.23	50.33 ± 0.38	50.47 ± 0.38
MCH (pg)	16.20 ± 0.11	16.33 ± 0.19	16.60 ± 0.13
MCHC (g/l)	321.47 ± 1.45	325.67 ± 1.74	325.73 ± 3.02
RDW (%)	9.84 ± 0.21	10.62 ± 0.30	10.68 ± 0.32
trombociti (10⁹/l)	843.00 ± 22.58	695.58 ± 39.66**	570.53 ± 26.18***#
MPV	6.73 ± 0.15	6.92 ± 0.15	7.00 ± 0.10

Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. MCV- srednja vrednost korpuskularnog volumena eritrocita, MCH- srednja vrednost korpuskularnog hemoglobin, MCHC- srednja vrednost korpuskularne koncentracije hemoglobin, RDW- vrednost širine distribucije volumena eritrocita , MPV- srednja vrednost volumena trombocita. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a (*p<0.05 vs kontrolna grupa, **p<0.01 vs kontrolna grupa, #p<0.05 vs S grupa).

5.6. DEJSTVO SMP-a NA CELULARNOSTI SLEZINE I KOŠTANE SRŽI

Ukupan broj ćelija u slezini SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a je značajno povećan u odnosu na druge dve grupe pacova (**Figura 11.**). Broj eritrocita je značajno povećan kod životinja koje su bile izložene dejstvu SMP-a obe orijentacije u odnosu na kontrolnu grupu pacova. Kod životinja koje su bile izložene dejstvu južnog pola SMP-a došlo je do izraženijeg povećanja broja eritrocita u slezini (**Figura 11.**). Granulociti u slezini SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a obe orijentacije su bili u značajno manjem broju u odnosu na kontrolnu grupu pacova, dok se broj limfocita nije razlikovao između grupa (**Figura 11.**). Rezultati analizirane koštane srži u golenjači SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a obe orijentacije su prikazani u **Figuri 12.** Ukupan broj ćelija koštane srži je značajno povećan kod SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a u odnosu na pacove koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a i kontrolnu grupu. Pacovi na koje je delovao severni pol SMP-a su imali značajno manji ukupan broj ćelija koštane srži u odnosu na kontrolnu grupu (**Figura 12.**). Broj eritrocita u koštanoj srži SH pacova izloženih dejstvu severnog pola SMP-a je značajno povećan u poređenju sa grupom životinja izloženih južnom polu SMP-a (**Figura 12.**). Broj granulocita u koštanoj srži je značajno smanjen u SH pacova koji su izloženi dejstvu oba pola magneta u odnosu na kontrolnu grupu pacova, s tim što severni pol SMP-a ima izraženiji efekat na smanjenje broja granulocita u koštanoj srži (**Figura 12.**). Limfociti koštane srži pacova izloženih dejstvu južnog pola SMP-a su u znatno većem broju u odnosu na ostale grupe (**Figura 12.**).

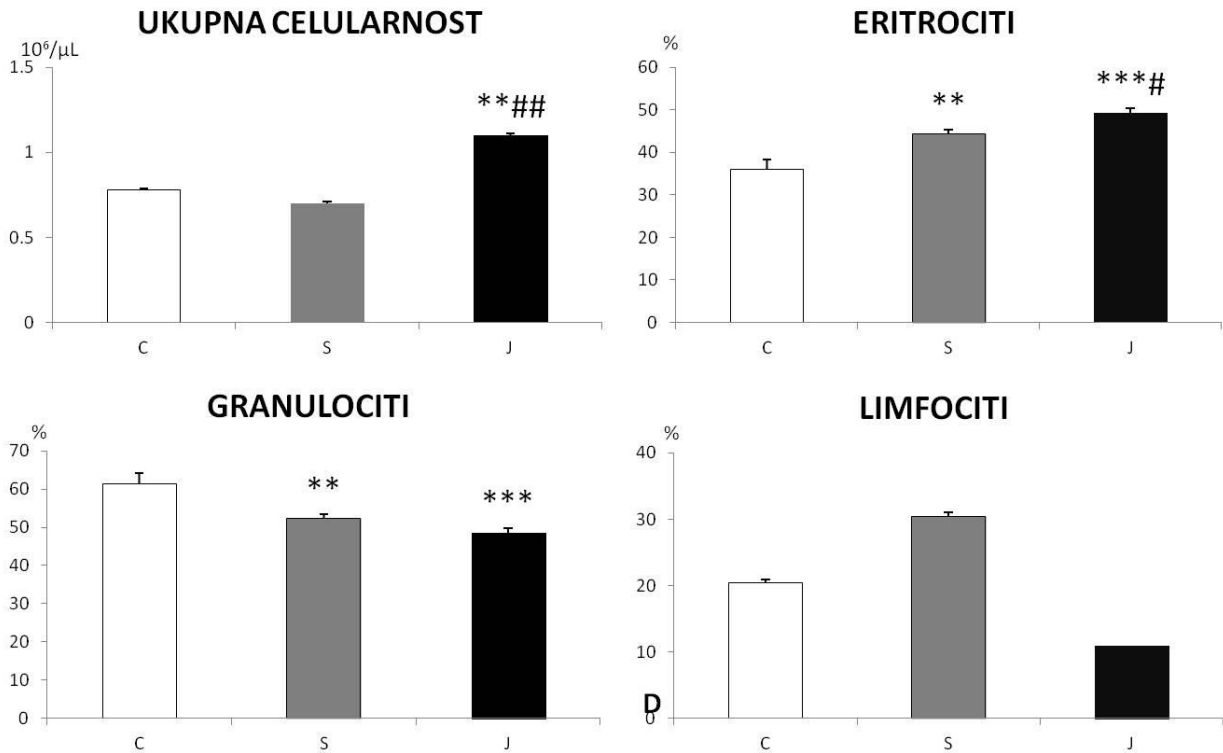


Figura 11. Celularnost slezine neekspoziranih i ekspoziranih SH pacova dejstvu SMP-a različite orijentacije. Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a (**p<0.01 vs kontrolna grupa, ***p<0.001 vs kontrolna grupa, #p<0.05 vs S grupa, ##p<0.01 vs S grupa).

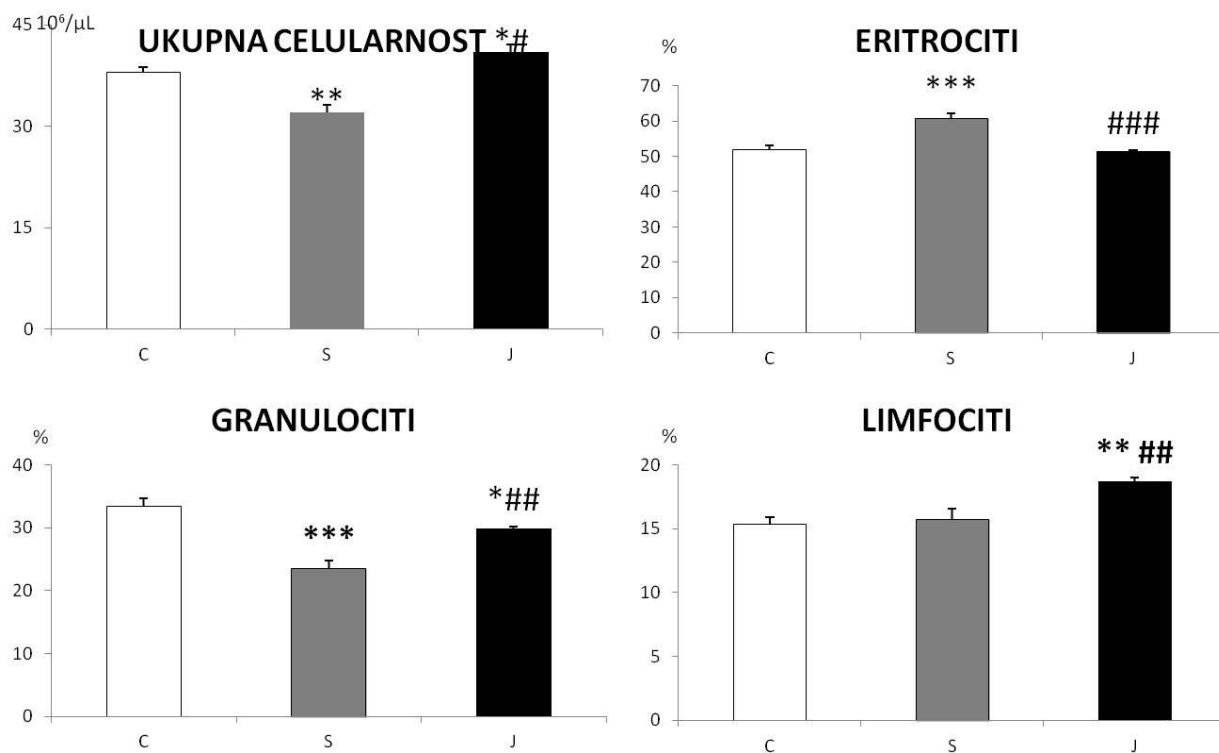


Figura 12. Celularnost koštane srži neekspoziranih i ekspoziranih SH pacova dejstvu SMP-a različite orijentacije. Podaci su prikazani kao srednja vrednost±standardna greška od n=17 eksperimanata. C- kontrolna grupa, S- grupa izložena dejstvu severnog pola SMP-a, J- grupa izložena dejstvu južnog pola SMP-a (**p<0.01 vs kontrolna grupa, ***p<0.001 vs kontrolna grupa, ##p<0.01 vs S grupa, ###p<0.01 vs S grupa).

5. DISKUSIJA

Naša studija je po prvi put pokazala da kontinuirano izlaganje spontano hipertenzivnih pacova južnom polu SMP-a, intenziteta 16 mT, dovodi do povećane ekspresije AT_{1b} i smanjene ekspresije AT₂ angiotenzinskih receptora u NTS-u. Pokazali smo da prolongirana ekspozicija spontano hipertenzivnih pacova SMP-u različite orijentacije, srednjeg intenziteta, dovodi do smanjenja vrednosti arterijskog krvnog pritiska i do povećanja senzitivnosti baroreceptorskog refleksa, smanjujući njegovo težište rada na niže vrednosti sistolnog arterijskog krvnog pritiska. Prvi put je u našem istraživanju pokazano da SMP srednjeg intenziteta različite orijentacije dovodi do smanjenja vrednosti kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska. Južni pol SMP je bio efikasniji u redukovanju sistolnog arterijskog krvnog pritiska, njegovog kratkoročnog varijabiliteta i srčane frekvencije SH pacova koji su mu bili izloženi. Takođe smo pokazali da izlaganje SH pacova SMP-u različite orijentacije ne smanjuje hipertenzivnu kardiomiopatiju i glomerulosklerozu, ali da dovodi do poremaćaja hematopoeze.

Poznato je da renin-angiotenzin sistem utiče na autonomnu nervnu regulaciju kardiovaskularnog sistema i da značajno doprinosi razvoju neurogene hipertenzije (Grassi, 1998a; Nap i sar., 2003). *Nucleus tractus solitarius* je mesto gde se završavaju aferetna vlakna baroreceptorskog refleksa i zna se da je u njemu prisutan renin angiotenzinski sistem (McKinley i sar. 2003; De Kloet i sar., 2015). Spontano hipertenzivni soj pacova karakteriše povećana aktivnost renin angiotenzin sistema u NTS-u u poređenju sa normotenzivnim životinjama (Ruiz i sar., 1990). Postojeći podaci pokazuju da povećana genska ekspresija angiotenzinskih AT₁ receptora u NTS-u spontano hipertenzivnih pacova dovodi do smanjenja osetljivosti baroreceptorskog refleksa, dok povećanje genske ekspresije AT₂ receptora u NTS-u ostvaruje suprotan efekte na senzitivnost BRR spontano hipertenzivnih pacova (Gutkind, 1998; Ruchay, 2016). Oliverio i saradnici (1997) su pokazali AT_{1b} receptori preuzimaju ulogu u regulaciji arterijskog krvnog pritiska u miševa kojima nedostaje angiotenzinski AT_{1a} receptor.

Naši rezultati su pokazali da postoji značajno povećana genska ekspresija angiotenzinskih AT_{1b} receptora, trend porasta genske ekspresije AT_{1a} i smanjena genska ekspresija

angiotenzinskih AT_2 receptora u *nucleus tractus solitarius*-u SH pacova koji su bili kontinuirano subhronično izloženi dejstvu južnog pola SMP srednjeg intenziteta u odnosu na SMP-u neeksponirane životinje. Ovakav nalaz i prethodno opisana uloga AT receptora u NTS-u na BRS negira njihovu ulogu u modulaciji BRR u našim eksperimentima. Postoji mogućnost je da do promena genske ekspresije angiotenzinskih receptora u NTS-u došlo kao kompenzatorni odgovor na povećanje BRR senzitivnosti usled dejstva SMP-a na periferiji, tj. baroreceptore. Ipak ne možemo isključiti mogućnost da je do povećanja BRS došlo usled promena ekspresije angiotenzina II ili njegovih receptora u drugim delovima mozga uključenim u neurogenu kontrolu cirkulacije, pre svega hipotalamusu, moždanom stablu i cirkumventrikularnim strukturama (Cottrel i Ferguson, 2004; Davern i Head, 2007; Ufnal i Skrzypecki, 2014), posebno *arei postrema* koja je blisko povezana sa NTS-om u regulaciji BRS (Fink i sar., 1987; Matsumura i sar., 1999; Tan i sar., 2007; Carlson i Wyss, 2008).

SH pacovi izloženi dejstvu severnog pola SMP nemaju značajnije promene u genskoj ekspresiji angiotenzinskih AT_{1a} , AT_{1b} i AT_2 receptora, iako imaju povećanu senzitivnost baroreceptorskog refleksa. Ova razlika u nalazima izlaganju dva pola SMP-u sugerišu da promene ekspresije AT receptora u NTS-u i nisu povezane sa promenom BRS.

Naše istraživanje je pokazalo da kontinuirana ekspozicija SH pacova SMP-u različite orijentacije, intenziteta 16 mT, tokom 30 dana redukuje vrednost arterijskog krvnog pritiska i njegovog kratkoročnog varijabiliteta. Poznato je da je kratkoročni varijabilitet arterijskog krvnog pritiska faktor rizika u nastanku kardiovaskularnih oboljenja (Mancia i Parati, 2003). Mehanizmi, kao što su simpatička nervna aktivnost, baroreceptorski refleks, miogena aktivnost zida krvnih sudova, vazoaktivni molekuli i peptidi kao što su NO, bradikinin, vazopresin i renin angiotenzin sistem utiču na homeostazu arterijskog krvnog pritiska i na njegov kratkoročni varijabilitet (Japundžić i sar., 1990; Japundžić- Žigon, 1998; Stauss i Persson, 2000, Stauss 2007). Pokazali smo da južni pol SMP-a redukuje LF komponentu kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska koja predstavlja uticaj aktivnosti simpatičkog nervnog sistema na krvne sudove (Japundžić- Žigon, 1998). U prilog tome da postoji redukovana aktivnost simpatikusa govori i značajno smanjena koncentracija noradrenalina u krvnoj plazmi SH pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a. Noradrenalin je glavni neurotransmiter simpatičkog nervnog sistema koji aktivirajući adrenergičke α_1 receptore u krvnim sudovima dovodi do vazokonstrikcije. Upravo ovo smanjenje simpatičke

aktivnosti i koncentracije noradrenalina u krvnoj plazmi može biti odgovorno za redukciju perifernog otpora i smanjenje vrednosti SAP, DAP i MAP u našoj studiji. Naše istraživanje je u konzistenciji sa studijama koje su pokazale da kontinuirana ekspozicija SMP-u smanjuje periferni otpor i povećava perifernu mikrocirkulaciju (McKay i sar., 2007). Gmitrov (2013) je pokazao da SMP srednjeg intenziteta u koži zeca povećava protok krvi. Pretpostavlja se da SMP moduliše mikrocirkulaciju delujući na strukturu Ca^{2+} kanala glatkih mišića u zidu krvnih sudova (Rosen, 2003). Smatra se da SMP može uticati na vaskularni tonus perifernih krvnih sudova i putem modulacije K^+ kanala koja dovodi do endotelne hiperpolarizacije, a samim tim i do vazodilatacije (Griffith, 2004; Gmitrov, 2013).

Takođe, naše istraživanje je pokazalo da oba pola SMP-a dovode do redukcije VLF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska SH pacova. Mehanizmi odgovorni za modulaciju VLF komponente arterijskog krvnog pritiska su miogeni tonus zida krvnih sudova, termoregulacija, renin angiotenzin sistem, kateholamini, bradikinin, vazopresin, azot oksid (Japundžić-Žigon, 1998; Stauss, 2007). Okano i saradnici (2005) su pokazali da hronična ekspozicija SMP-u srednjeg intenziteta dovodi do smanjenja koncentracije angiotenzina II i aldosterona u krvnoj plazmi SH pacova. Shodno navedenoj studiji pretpostavljamo da je kod naših SH pacova izloženih dejstvu SMP-a došlo do smanjenja vrednosti angiotenzina u krvnoj plazmi. U prilog našem istraživanju govori i studija Oz-a i saradnika (1995) koja pokazuju da hronična blokada RAS-a sa inhibitorima angiotenzin konvertujućeg enzima prevenira porast VLF oscilacije sistolnog arterijskog krvnog pritiska nakon hemoragije kod SH pacova. Takođe su i druge eksperimentalne studije pokazale da stimulacija RAS-a dovodi do porasta VLF oscilacija kratkoročnog varijabiliteta SAP-a i da se taj porast može blokirati antagonistima angiotenzin AT_{1a} receptora (Ponchon i sar., 1993; Blanc i sar., 2000). Kateholamini modulišu VLF oscilacije sistolnog arterijskog krvnog pritiska (Radaelli i sar., 2006), tako da je u našim eksperimentima smanjena koncentracija noradrenalina u plazmi verovatno doprinela redukciji VLF komponente. Takođe, poznato je da miogeni vaskularni tonus doprinosi nastanku VLF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog pritiska i da kalcijumski antagonisti mogu doprineti smanjenju ove komponente (Langager i sar., 2006; Stauss, 2007). S obzirom da SMP može delovati na Ca^{2+} kanale (Rosen, 2003), verovatno je da ima uticaja na miogenu aktivnost zida krvnih sudova. Moguće je da povećanje spontanog BRR kod naših eksperimentalnih životinja izloženih dejstvu SMP-a različite orijentacije, takođe, doprinosi

redukovanju vrednosti VLF oscilacije sistolnog arterijskog krvnog pritiska u našim eksperimentima. Naime, u objavljenim studijama je pokazano da BRR puferuje VLF komponentu varijabiliteta arterijskog krvnog pritiska (Cerutti i sar., 1994; Just i sar., 1994).

Pokazali smo da južni pol SMP-a dovodi do povećanja HF komponente kratkoročnog varijabiliteta sistolnog arterijskog krvnog pritiska kod izloženih SH pacova. HF oscilacija arterijskog krvnog pritiska se javlja tokom inspiracije usled promene vrednosti krvnog pritiska uzrokovane distenzijom krvnih sudova u grudnom košu (Japundžić-Žigon, 2002). Na HF komponentu arterijskog krvnog pritiska utiče način disanja (frekvencija i dubina) i promene u cirkulišućem volumenu krvi (Japundžić-Žigon, 1998). Tako, hiperventilacija povećava negativni intratorakalni pritisak i dovodi do distenzije zidova torakalnih krvnih sudova (Elghozi i sar., 1991). Ekspozicija SMP-u SH pacova je dovela verovatno do redistribucije krvi ka periferiji i tako povećala respiratornu oscilaciju arterijskog krvnog pritiska, s obzirom da SH pacovi nisu imali promene u obrascu disanja u našem istraživanju.

Registrovali smo smanjenje vrednosti srčane frekvencije SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a u našem istraživanju. Ovaj nalaz se verovatno može objasniti uticajem povećane senzitivnosti spontanog BRR na rad srca i pomeranjem simpato-vagalnog balansa u korist *nervusa vagus*-a. Nismo registrovali promene u kratkoročnom varijabilitetu srčane frekvencije kod SH pacova izloženih dejstvu SMP-a različite orijentacije. Naše istraživanje je u skladu sa studijom Mitsutake i sar. (2004) koja je pokazala da magnetno polje dovodi do smanjenja vrednosti srčane frekvencije bez uticaja na kratkoročni varijabilitet. Okano i sar. (2005) su pokazali da nema promena srčane frekvencije SH pacova različite starosti koji su kontinuirano bili izloženi dejstvu SMP srednjeg intenziteta. Hinman (2002) je pokazala da nema promene srčane frekvencije zdravih odraslih ljudi izloženih kratkotrajnom dejstvu oba pola SMP. Sert i sar. (2010) su pokazali da SMP jakog intenziteta dovodi do porasta kratkoročnog varijabiliteta srčane frekvencije kod zdravih osoba muškog pola. Razlike između naše i navedenih studija se mogu objasniti primenom SMP-a različitog intenziteta, kao i različitim eksperimentalnim modelima i protokolima.

Pokazali smo da izlaganje SH pacova SMP-u dovodi do povećanja osetljivosti spontanog BRR i njegovog resetovanja ka nižim vrednostima sistolnog arterijskog krvnog pritiska. BRR je jedan od mehanizama odgovornih za održavanje homeostaze cirkulacije. Naime,

baroreceptori su mehanoreceptori koji se nalaze u zidovima arterijskih krvnih sudova i reaguju na njihovo mehaničko istezanje pri promeni krvnog pritiska zbog čega dolazi do aktivacije baroreceptorskog refleksa. Spontani BRR povećava aktivnost parasimpatičkog nervnog sistema, a smanjuje aktivnost simpatičkog nervnog sistema, na taj način modulišući rad srca i periferni otpor krvnih sudova. Poslednjih 50 godina su brojne studije pokazale da je hipertenzija povezana sa smanjenom osetljivošću baroreceptorskog refleksa (Bristow i sar., 1969; Mancina i sar., 1982; Grassi i sar., 1998b). Smanjenje osetljivosti baroreceptorskog refleksa predstavlja nezavisan loš prognostički znak koji prethodi nastanku oštećenja perifernih organa prvenstveno srca, bubrega i mozga (La Rovere i sar., 1998; La Rovere i sar., 2001). U novije vreme zabeležen je značajan uspeh primene baroreceptor aktivirajuće terapije u lečenju hipertenzije rezistentne na antihipertenzivne lekove, ali i drugih kardiovaskularnih oboljenja (Alnima i sar., 2014; 2015). Gmitrov je pokazao u svojim istraživanjima (Gmitrov, 2007; 2010 2013) da SMP srednjeg intenziteta dovodi do porasta senzitivnosti BRR zečeva kod kojih je SMP bilo aplikovano na vratu u predelu karotidnog sinusa. Moguće objašnjenje za povećanju osetljivost BRR je delovanje aplikovanog SMP srednjeg intenziteta na membranu baroreceptorskih ćelija u luku aorte i karotidnom sinusu. Naime, poznato je da aktivacija ekscitabilnih ćelija zavisi od koncentracije jona i stanja jonskih kanala u ćelijskim membranama. Shodno tome moguće je da SMP utiče na mehanosenzitivne, voltažno nezavisne jonske kanale i povećava influks Ca^{2+} jona u ćelijama, dovodeći do ćelijske depolarizacije i aktivacije (Rosen, 2003). U prilog navedenoj hipotezi govori i istraživanje Hughes i saradnika (2005) koji su pokazali da SMF moduliše aktivaciju mehanosenzitivnih jonskih kanala u veštačkim lipozomima verovatno tako što menja svojstva ćelijskih membrana delujući na orijentaciju fosfolipida koji imaju dijamagnetne osobine. Naša studija je, takođe, u konzistenciji sa nalazom Gmitrova i Okhubo (2002) koji su pokazali da SMP srednjeg intenziteta povećava senzitivnost BRR. Prepostavili su da SMP pored modifikacije kalcijumskih, kalijumovih i natrijumovih jonskih kanala može i indirektno uticati na aktivnost baroreceptorskih ćelija putem lokalnog oslobađanja neurohumoralnih faktora kao na primer NO faktora. Azot-(II)-oksid može delovati na glatke mišićne ćelije zida krvnih sudova i nervne završetke i tako indirektno dovesti do aktivacije baroreceptora (Chapleau i Abbound, 1994).

Poznato je da povišen arterijski krvni pritisak dovodi do oštećenja perifernih organa. Komplikacije hipertenzije su najčešće u vidu srčane i bubrežne insuficijencije kao i

cerebrovaskularnih oboljenja (Mancia i sar., 1994a). Povećanje varijabiliteta arterijskog krvnog pritiska i smanjenje osetljivosti baroreceptorskog refleksa takođe predstavljaju nezavisne faktore koji doprinose oštećenju organa u hipertenziji i povećanju mortaliteta (Mancia i sar., 1994b; Mancia i sar., 1997; Wang i sar., 2005). Spontano hipertenzivni soj pacova, predstavljen u Japanu (Okamoto i Aoki 1963), jedan je od najčešće korišćenih sojeva u istraživanjima koji odgovara humanoj esencijalnoj hipertenziji i koga karakteriše oštećenje perifernih organa zbog promena na krvim sudovima malog kalibra. Naime, arterijski krvni sudovi malog i srednjeg kalibra u hipertenziji su remodelovani zbog povećanja vaskularnog tonusa usled povećane simpatičke nervne aktivnosti i delovanja lokalnih humoralnih faktora (angiotenzin II, endotelni faktor relaksacije, endotelin, itd.). Remodelovanje srčanog mišića podrazumeva hipertrofiju kardiomiocita leve komore kao odgovor na povećanje *afterload-a* koje postoji u hipertenziji (Tarazi i Levy, 1982). Takođe, na hipertrofiju leve komore srčanog mišića u hipertenziji utiču i humoralni faktori kao što su renin angiotenzin sistem i noradrenalin (Frohlich i Tarazi, 1979). Kod SH pacova su izražene komplikacije hipertenzije, prvenstveno u tkivu bubrega i srčanog mišića. SMP različite orijentacije, srednjeg intenziteta, iako je dovelo do smanjenja vrednosti sistemskog arterijskog krvnog pritiska, redukovalo kratkoročni varijabilitet arterijskog krvnog pritiska i povećalo senzitivnost baroreceptorskog refleksa SH pacova, nije se pokazalo kao dovoljno efikasno u sprečavanju oštećenja organa izazvano genetskom hipertenzijom. Ovakav nalaz je najverovatnije posledica nedovoljno duge ekspozicije spontano hipertenzivnih pacova stalnom magnetnom polju. Nađene patohistološke promene u tkivu srca i bubrega možemo dovesti u vezu sa osobinama upotrebljenog genetski hipertenzivnog soja pacova u našim eksperimentima. Naime, promene u srčanom i bubrežnom tkivu su posledica sistemske arterijske hipertenzije koja karakteriše ovaj soj pacova (Kai i sar, 2014). Naši rezultati pokazuju da u levoj komori srca sve tri eksperimentalne grupe postoji hipertrofija kardiomiocita sa prisutnom intersticijskom fibrozom i hipertrofijom medije krvnih sudova manjeg kalibra. Sistemske arterijske hipertenzije karakterišu izražene promene na zidu malih mišićnih arterija i arteriola bubrega u vidu hipertrofije, hijalinoze i elastoze medije, hijalinoze intime i perivaskularne fibroze (Weller, 1979), što je u skladu sa našim rezultatima. Poznato je da suženje lumena krvnih sudova bubrega koje je posledica hipertenzije dovodi do ishemijskih lezija koje se manifestuju hijalinozom i sklerozom glomerula, atrofijom bubrežnih kanalića i fibrozom intersticijuma (Bohle i sar., 1998), što je takođe dobijeno analizom glomerula naših zivotinja.

Postojeće studije pokazuju oprečne rezultate vezano za uticaj SMP-a na oštećenje organa. Gorczyńska i Wergzynowicz (1986) nisu pokazali da postoje morfološke promene u srcu i bubrezima zamoraca koji su bili izloženi homogenom SMP-u, intenziteta 0.005 T, 1h dnevno tokom 7 nedelja, što ide u prilog našim rezultatima. Suprotno našim rezultatima Milovanovich i saradnici (2016) su pokazali da postoji nespecifično zapaljenje bubrega kod mužijaka *Swiss-Webster* soja miševa koji su bili izloženi SMP-u različite orijentacije intenziteta 128mT, 1čas/danu tokom 5 dana. Amara i saradnici (2007) su pokazali da subhronična ekspozicija pacova *Wistar* soja 1čas /danu tokom 30 dana SMP-u dovodi do oksidativnog stresa i DNA oksidacije u tkivu bubrega. Iako ekspozicija SMP-u, srednjeg intenziteta, 1čas/danu, tokom 30 uzastopnih dana, dovela do porasta lipidne peroksidacije i smanjene aktivnosti enzima koji učestvuju u antioksidativnom stresu ćelija, nije značajno povećala oksidativni stres u srcu *Wistar* pacova (Amara i sar., 2009). Prisutna razlika između rezultata naših istraživanja u odnosu na druge studije postoji verovatno zbog nepodudaranja eksperimentalnih modela i protokola. Moguće je takođe da SMP uzrokuje oštećenje ćelija na nivou DNA reparacije, ali da to ne dovodi do vidljivih morfoloških promena u tkivu (Gohdbane i sar., 2013), te su potrebne dodatne analize da bi se pokazao morfološki vidljiv efekat SMP-a različite orijentacije u tkivu srca i bubrega naših eksperimentalnih životinja. Sa druge strane, neke studije su pokazale da SMP može delovati i protektivno na tkiva organa iz razloga što redukuje oksidativni stres u ćelijama, povećavajući aktivnost superoksid dismutaze u ćelijskim kulturama (Kurzeja i sar., 2013).

Naše istraživanje je prvo pokazalo da kontinuirano subhronično izlaganje SMP-u različite orijentacije, srednjeg intenziteta ima efekta na ćelije u krvi i hematopoeznim organima SH pacova. SMP različite orijentacije pokazalo se efikasno u smanjenju broja trombocita u perifernoj krvi, takođe u tendenciji smanjenja broja eritrocita i drugih hematoloških parametara, dok je severni pol SMP-a bio efikasan i u smanjenju broja limfocita u perifernoj krvi SH pacova. Pokazali smo da je ukupna celularnost slezine i koštane srži veća kod SH pacova koji su subhronično bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a. Ovaj nalaz je posledica porasta broja eritrocita u slezini i limfocita u koštanoj srži SH pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a. Broj granulocita je bio smanjen kod SH pacova izloženih dejstvu južnog pola magneta SMP-a. Smanjena vrednost ukupne celularnost koštane srži SH pacova koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a prisutna je verovatno zbog značajne

destrukcije granulocita u koštanoj srži pacova. Severni pol SMP-a je doveo do porasta broja eritrocita u hematopoeznim organima.

Vrednost trombocita u krvi je značajno snižena kod pacova koji su bili izloženi dejstvu SMP-a različite orijentacije u odnosu na kontrolnu grupu. Pacovi koji su bili izloženi dejstvu južnog pola SMP-a postigli su značajnije smanjenje broja trombocita u krvi u odnosu na pacove koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a. Naši rezultati su u skladu sa Hashish i sar. (2008) čije je istraživanje pokazalo da je subhronično izlaganje miševa SMP-u (-2.9 to +2.9 μ T) dovelo do smanjenja broja trombocita u perifernoj krvi. Gorczynska i Wegrzynowicz (1983) su pokazali da ekspozicija zamorca SMP-u, intenziteta 5 mT i 300 mT u vremenu od 1 sat dnevno u periodu od 7 dana dovodi do smanjenja broja trombocita u perifernoj krvi i da takođe ubrzava njihovu agregaciju. Mužijaci *Swiss* miševa koji su bili izloženi dejstvu homogenog magnetnog polja, intenziteta 0.9 T 13 dana imali su smanjen broj megakariocita u koštanoj srži i povećan broj megakariocita u slezini, verovatno kao posledica nespecifičnog stresa koji je izazivan dejstvom magnetnog polja (Barnothy i Sumegi, 1969; Barnothy i Barnothy 1970). Pretpostavljamo da se naši rezultati mogu objasniti time da subhronična ekspozicija SH pacova SMP-u različite orijentacije može dovesti do promena u citoskeletu trombocita i Ca^{2+} kanala koje možda mogu uzrokovati deformaciju ćelijske membrane, a samim tim i oštećenje ćelije. Ovo dalje rezultuje destrukcijom trombocita u slezini i smanjenjem njihovog broja u perifernoj krvi. Rosen (2003) je objasnio da SMP utiče na ćelijske membrane i ćelijski citoskelet jer poseduju dijamagnetnu anizotropiju Higashi i sar. (1993) su pokazali da se izolovani humani trombociti orijentišu paralelno SMP-u, verovatno zbog orijentacije mikrotubula u SMP-u. Milovanovich i sar. (2016) su pokazali da u krvi postoji smanjenje broja trombocita kod miševa koji su bili izloženi dejstvu SMP-a različite orijentacije, intenziteta 128mT, ali da razlika nije bila značajna. Sa druge strane naši rezultati nisu u skladu sa istraživanjem Amara i sar. (2006) i Sihem (2006) koji su pokazali da magnetno polje srednjeg intenziteta dovodi do porasta broja trombocita u perifernoj krvi. Barnothy i Barnothy (1970) su pokazali da dejstvo MP dovodi do porasta broja trombocita u krvi kod mladih ženki miševa, soja DBA/J2, verovatno kao posledica nespecifičnog stresa. Elferchichi i saradnici (2015) su pokazali da nema razlike u broju trombocita u krvi mladih, *Wistar* soja koji su bili izloženi dejstvu SMP-a, intenziteta 128mT i kontrolnih pacova. Razlike između našeg istraživanja i gore navedenih istraživanja se mogu objasniti razlikama u različitim eksperimentalnim modelima, dužini ekspozicije, intenzitetu SMP-a.

SH pacovi koji su bili izloženi dejstvu magnetnog polja oba pola su pokazali porast crvenih krvnih zrnaca u slezini i ovaj efekat je više naglašen kod pacova koji su bili izloženi dejstvu južnog pola magneta. Takođe smo pokazali da postoji trend smanjenja vrednosti hemoglobina u perifernoj krvi SMP-u eksponiranih pacova, ali bez značajne razlike između grupa životinja. Ovakav nalaz je verovatno posledica ubrzane hematopoeze u slezini i oslobađanja mladih, nedovoljno zrelih eritrocita u perifernu krv koje karakteriše nedovoljan sadržaj hemoglobin. SMP je moglo da dovede do povećanog oksidativnog opterećenja u eritrocitima, pa je to mogao biti stimulus za ubranu eritropoezu u hematopoeznim organima. Ali i saradnici (2003) su pokazali da magnetno polje srednjeg intenziteta dovodi do smanjenja elastičnosti, permeabiliteta i promene strukture hemoglobin eritrocita izloženih pacova. Pored toga što promene karakteristika hemoglobina mogu dovesti do oštećenja eritrocita, takođe, SMP može uticati na strukturu ćelijske membrane (Rosen, 2003), što isto može biti uzrok povećanog oksidativnog opterećenja eritrocita. Elblbesy (2010) je pokazao da eritrociti izloženi dejstvu SMP-a srednjeg intenziteta pokazuju promenu svog oblika u pravcu nastanka sferocita i povećanu agregaciju. Regan i sar. (1983) su pokazali da postoji tendencija smanjenja broja eritrocita u krvi *Sprague-Dawley* pacova izloženih dejstvu magnetnog polja, frekvencije 60 Hz, ovo istraživanje je takođe u skladu sa našim rezultatima. Druge studije su pokazale da subhronična ekspozicija SMP-u dovodi do smanjenja broja eritrocita u krvi (Hassan, 2011; Elferchichi i sar., 2015). Neki autori opet nisu pronašli da magnetno polje dovodi do promena broja eritrocita u perifernoj krvi (Cakir i sar., 2009; Djordjevich i sar., 2012; Milovanovich i sar., 2016). Naše istraživanje takođe pokazuje da postoji povećan broj eritrocita u koštanoj srži kod SH pacova koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a. Promenjene karakteristike hemoglobina koje su indukovane delovanjem SMP-a mogu dovesti do stanja nalik hipoksiji što može dalje stimulisati produkciju eritrocita u koštanoj srži. Atef i saradnici (1995) su pokazali da SMP srednjeg intenziteta menja karakteristike hemoglobina kod miševa *Swiss* soja. Pokazano je da SMP može dovesti do kardiovaskularnog stresa što dalje vodi ka povećanju cirkulišućeg volumena i stanja pseudoanemije koje posledično može uzrokovati povećanu produkciju eritrocita u koštanoj srži (Eleferchich i sar., 2015). Međutim, naše analize neurogene regulacije homeostaze kardiovaskularnog sistema ne govore u prilog postojanja kardiovaskularnog stresa. Monzen i saradnici (2009) su pokazali da magnetno polje visokog intenziteta dovodi do stimulacije proliferacije i diferencijacije CD34 pozitivne progenitorske ćelije hematopoeze u pravcu eritroidne ćelijske linije, moguće tako što utiče na ushodnu regulaciju gena odgovornih za diferencijaciju ćelije. Moguće da je u našem

istraživanju povećan broj eritrocita u koštanoj srži zbog stimulacije proliferacije eritroidne ćelijske linije. Djordjevich, Milovanovich i sar. (2012, 2016) su pokazali da se kod miševa izloženih dejstvu SMP-a ne menja broj eritrocita u slezini. Razlike između naših rezultata i rezultata dobijenih u drugim studijama se mogu verovatno objasniti različitim eksperimentalnim protokolima.

Pokazali smo da je broj granulocita u slezini i koštanoj srži značajno smanjen nakon ekspozicije SMP-u različite orijentacije. Ovakav rezultat se može objasniti oštećenjem granulocita zbog produkcije reaktivnih kiseoničnih radikala usled dejstva SMP-a i fagocitozom oštećenih granulocita u slezini. Naša istraživanja su u konzistenciji sa studijama koje su pokazale da miševi izloženi dejstvu SMP-a različite orijentacije takođe imaju smanjen broj leukocita u slezini (Djordjevich i sar., 2012; Milovanovich i sar., 2016). Prethodna istraživanja su pokazala da SMP povećava unutarćelijsku produkciju slobodnih kiseoničnih radikala, izaziva proinflamatorne promene i samim tim dovodi do programirane ćelijske smrti-apoptoze (Zhao i sar., 2011). Naime, magnetno polje, prema literaturi, moduliše produkciju slobodnih radikala tako što menja brzinu hemijskih reakcija (Brocklerhurst i McLauchlan, 1996; Hore i Mouritsen 2016). Slobodni radikali, posebno reaktivni kiseonični radikali (superoksid anjon, hidroksilni radikal, vodonik peroksid, *singlet* kiseonik) su produkti biohemijskih reakcija u metabolički aktivnim ćelijama. Povećana produkcija reaktivnih radikala ili smanjen kapacitet eliminisanja istih dovodi do oštećenja lipida, proteina i DNK ćelije. Enzimi, kao što su NADPH oksidaza i citohrom P450 koji su odgovorni za produkciju slobodnih radikala kao i katalaza, superoksid dismutaza i glutation peroksidaza koji učestvuju u eliminaciji slobodnih radikala sadrže jone metala u svojoj strukturi. Moguće je da SMP srednjeg intenziteta utiče na *spin* elektrona jona metala i na taj način menja brzinu i prinos hemijskih i biohemijskih reakcija (Brocklehurst and McLauchlan 1996; De Luka i sar., 2016). Naime, slobodni radikali se formiraju od atoma ili grupe atoma raskidanjem hemijskih veza u molekulu. Par tako nastalih radikala definišu elektroni koji mogu biti u *singlet* ili *triplet* stanju u zavisnosti od odnosa svojih *spinova*. *Singlet* stanje karakteriše par elektrona sa antiparalelnim *spinovima*, dok *triplet* stanje odlukuje par elektrona sa paralelnim *spinovima*. Važno je napomenuti da su parovi radikala sa paralelnim *spinovima* reaktivniji jer poseduju više slobodne energije. Spolja aplikovano SMP utiče na stanje *spinova* i međusobnu rekombinaciju elektrona parova slobodnih radikala i to je poznato kao *Zeeman* interakcija (Rodgers, 2009). Naime, aplikovano SMP deluje na *singlet-*

triplet interkonverziju u parovima slobodnih radikala što moduliše kinetiku biohemijskih reakcija i tako može povećati nastanak slobodnih reaktivnih radikala koji dovode do oštećenja ćelije u biološkim sistemima (Brocklehurst and McLauchlan, 1996).

Naše istraživanje je pokazalo značajno snižen broj limfocita u krvi SH pacova koji su bili izloženi dejstvu severnog pola SMP-a, a postoji tendencija povećanja njihovog broja u slezini u poređenju sa kontrolnom grupom. Južni pol SMP-a povećava broj limfocita u koštanoj srži i takođe dovodi do blagog trenda smanjenja broja limfocita u krvi i slezini. Pretpostavljamo da severni pol SMP dovodi do oštećenja ćelija limfocita koji se dalje razgrađuju u slezini. Moguće je da reaktivni kiseonični radikali uzrokuju oštećenja limfocita. Milovanovich i saradnici (2016) su pokazali da miševi, *Swiss-Webster* soja imaju smanjen broj limfocita u perifernoj krvi i njihovu redistribuciju u jetru i bubrege nakon izlaganja SMP-u različite orijentacije, intenziteta 128mT. Takođe, Hashish i saradnici (2008) su pokazali da SMP nakon subhronične ekspozicije miševa dovodi do smanjenja broja limfocita u perifernoj krvi i slezini. SMP, intenziteta 5mT povećava produkciju reaktivnih kiseoničnih radikala u limfocitima pacova *Wistar* soja *in vitro* (Politanski i sar., 2013), a reaktivni kiseonični radikali mogu oštetiti ćeliju i aktivirati ćelijske mehanizme apoptoze (Zmyslony i sar., 2004). SMP verovatno dovodi do produženja vremena preživljavanja reaktivnih kiseoničnih radikala i možda tako omogućava njihovu interakciju sa mehanizmima popravke DNK oštećenja što na kraju vodi ka oštećenju ćelije (Sarvestani i sar., 2010; Ghodbane i sar., 2013) i aktivaciji apoptoze. Neka istraživanja su pokazala da SMP srednjeg intenziteta ne utiče na vijabilitet limfocita (Zmyslony i sar., 2000; Tenuzzo i sar., 2006). Kontinuirano subhronično izlaganje SMP-u različite orijentacije, intenziteta 16 mT, nije imalo uticaja na broj limfocita u perifernoj krvi *Swiss- Webster* miševa, ali je dovelo do povećanja broja limfocita u slezini miševa (Djordjevich i sar., 2012). Dobijeni rezultati naše studije pokazuju više značajnih fenomena na koje se do sada nije dovoljno ukazivalo. Pre svega postoji jasna razlika u odgovoru hematopoeznih organa i ćelija periferne krvi na stalno magnetno polje različite orijentacije. SMP različite orijentacije nije često korišćeno u ogledima i tim su naši rezultati značajniji. Takođe, ova studija je pokazala da postoji različit odgovor dva hematopoezna organa pacova na SMP iste orijentacije. Tako, da bi naši rezultati mogli da ukažu na veću kompenzatornu aktivnost slezine SH pacova izazvanu oksidativnim/stresogenim oštećenjem limfocita periferne krvi S grupe životinja u odnosu na koštanu srž iste grupe. S druge strane, pacovi izloženi dejstvu južnog pola SMP-a pokazuju porast broja limfocita u koštanoj srži,

dok u slezini postoji tendencija njihovog pada, što je još jedan dokaz različitog odgovora hematopoeznih organa na SMP različite orijentacije. Ovi pokazatelji u našem nalazu zahtevaju dodatna i opsežnija istraživanja.

Naša studija pokazuje da SMP ima terpaijski potencijal i ohrabruje primenu magneta u kardiovaskularnim oboljenjima kod kojih dolazi do smanjenja osetljivosti baroreceptorskog refleksa kao i u lečenju hipertenzije. Primena stalnog magnetnog polja lokalno, u predelu vrata iznad karotidnog sinusa gde su locirani baroreceptori, najverovatnije ne bi uticala na hematopoezu, ipak potreban je dodatni oprez.

6. ZAKLJUČCI

1. Kontinuirana subhronična ekspozicija spontano hipertenzivnih pacova južnom polu stalnog magnetnog polja, srednjeg intenziteta, dovela je do povećanja genske ekspresije angiotenzinskih AT_{1b} i smanjenja genske ekspresije angiotenzinskih AT₂ receptora u *nucleus tractus solitarius*-u. Promena ekspresije ovih receptora ne može objasniti povećanje osetljivosti spontanog baroreceptorskog refleksa kod SH pacova izloženih SMP-u.
2. Kontinuirana subhronična ekspozicija spontano hipertenzivnih pacova stalnom magnetnom polju različite orijentacije, srednjeg intenziteta, se pokazala efikasna u smanjenju srednje vrednosti arterijskog krvnog pritiska i kratkoročnog varijabiliteta arterijskog krvnog pritiska u VLF domenu kao i u povećanju senzitivnosti spontanog baroreceptorskog refleksa. Ovi efekti najverovatnije su posledica dejstva SMP na smanjenje perifernog simpatičkog tonusa i sledstveno tome perifernog otpora kao i smanjenog lučenja renina i sinteze angiotenzina II. Do povećanja senzitivnosti BRR došlo je najverovatnije dejstvom SMP na fosfolipide membrane baroreceptora njihove deformacije i sledstvenog povećanja ulaska kalcijuma u njih.
3. Kontinuirana subhronična ekspozicija stalnom magnetnom polju različite orijentacije, srednjeg intenziteta, nije imala uticaja na razvoj komplikacija, hipertenzivnu kardiomiopatiju i renalnu sklerozu spontano hipertenzivnih pacova. Manjak efekta bi mogao biti povezan sa nedovoljno dugom ekspozicijom stalnom magnetnom polju.
4. Kontinuirana subhronična ekspozicija stalnom magnetnom polju različite orijentacije, srednjeg intenziteta, je dovela do smanjenja broja trombocita u perifernoj krvi, do smanjenja broja granulocita u slezini i koštanoj srži kao i do povećanja broja ertrocita u slezini spontano hipertenzivnih pacova. Takođe je registrovano da kontinuirana ekspozicija SH pacova severnom polu SMP-a dovodi do smanjenja broja limfocita u perifernoj krvi i porasta broja eritrocita u koštanoj srži, dok ekspozicija južnom polu SMP-a dovodi do porasta broja limfocita u koštanoj srži. Ovakav nalaz je verovatno posledica povećane produkcije reaktivnih kiseoničnih radikala, oštećenja DNK i promene ćelijskih struktura pod uticajem SMP.

7. LITERATURA

Abadir PM, Periasamy A, Carey RM, Siragy HM (2006). Angiotensin II type 2 receptor-bradykinin B2 receptor functional heterodimerization. *Hypertension* (2): 316-22.

Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ (1985). Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol* 249(4 Pt 2): H867-75.

Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, Cohen RJ (1981). Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213(4504): 220-2.

Ali FM, S Mohamed W, Mohamed MR (2003). Effect of 50 Hz, 0.2 mT magnetic fields on RBC properties and heart functions of albino rats. *Bioelectromagnetics* 24(8): 535-45.

Allen AM, MacGregor DP, McKinley MJ, Mendelsohn FA (1999). Angiotensin II receptors in the human brain. *Regul Pept* 79(1): 1-7.

Allen AM, Zhuo J, Mendelsohn FA (2000). Localization and function of angiotensin AT1 receptors. *Am J Hypertens* 13(1 Pt 2): 31S-38S.

Alnima T, Kroon AA, de Leeuw PW (2014). Baroreflex activation therapy for patients with drug-resistant hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 12(8): 955-62.

Alnima T, de Leeuw PW, Kroon AA (2015). Baropacing as a new option for treatment of resistant hypertension. *Eur J Pharmacol* 763(Pt A): 23-7.

Amara S, Abdelmelek H, Salem MB, Abidi R, Sakly M (2006). Effects of static magnetic field exposure on hematological and biochemical parameters in rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49(6): 889-895.

Amara S, Abdelmelek H, Garrel C, Guiraud P, Douki T, Ravanat JL, Favier A, Sakly M, Ben Rhouma K (2007). Zinc supplementation ameliorates static magnetic field-induced oxidative stress in rat tissues. *Environ Toxicol Pharmacol* 23(2):193-7.

Amara S, Garrel C, Favier A, Ben Rhouma K, Sakly M, Abdelmelek H (2009). Effect of static magnetic field and/or cadmium in the antioxidant enzymes activity in rat heart and skeletal muscle. *Gen Physiol Biophys* 28(4): 414-9.

Atef MM, Abd el-Baset MS, el-Kareem A, Aida S, Fadel MA (1995). Effects of a static magnetic field on haemoglobin structure and function. *Int J Biol Macromol* 17(2): 105-11.

Aubert AE, Ramaekers D, Beckers F, Breem R, Deneff C, Van de Werf F, Ector H (1999). The analysis of heart rate variability in unrestrained rats. Validation of method and results. *Comput Methods Programs Biomed* 60(3): 197-213.

Bajić D, Loncar-Turukalo T, Stojicić S, Sarenac O, Bojić T, Murphy D, Paton JF, Japundzić-Zigon N (2010). Temporal analysis of the spontaneous baroreceptor reflex during mild emotional stress in the rat. *Stress* 13(2): 142-54.

Baltatu O, Campos LA, Bader M (2004). Genetic targeting of the brain renin-angiotensin system in transgenic rats: impact on stress-induced renin release. *Acta Physiol Scand* 181(4): 579-84.

Baltatu O, Janssen BJ, Bricca G, Plehm R, Monti J, Ganten D, Bader M (2001). Alterations in blood pressure and heart rate variability in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Hypertension* 37(2 Pt 2): 408-13.

Barnothy MF, Sumegi I (1969). Abnormalities in organs of mice induced by a magnetic field. *Nature* 221(5177): 270-1.

Barnothy MF, Barnothy JM (1970). Magnetic fields and the number of blood platelets. *Nature* 225(5238): 1146-7.

Braun-Menendez E, Fasciolo JC, Leloir LF, Muñoz JM (1940). The substance causing renal hypertension. *J Physiol* 98(3): 283-98.

Berecek KH, Kirk KA, Nagahama S, Oparil S (1987). Sympathetic function in spontaneously hypertensive rats after chronic administration of captopril. *Am J Physiol* 252(4 Pt 2): H796-806.

- Blanc J, Lambert G, Elghozi JL (2000). Endogenous renin and related short-term blood pressure variability in the conscious rat. *Eur J Pharmacol* 394(2-3): 311-20.
- Bohle A, Wehrmann M, Greschniok A, Junghans R (1998). Renal morphology in essential hypertension: analysis of 1177 unselected cases. *Kidney Int Suppl* 67: S205-6.
- Boscan P, Allen AM, Paton JF (2001). Baroreflex inhibition of cardiac sympathetic outflow is attenuated by angiotensin II in the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience* 103(1): 153-60.
- Bristow JD, Honour AJ, Pickering GW, Sleight P, Smyth HS (1969). Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure. *Circulation* 39(1): 48-54.
- Brocklehurst B, McLauchlan KA (1996). Free radical mechanism for the effects of environmental electromagnetic fields on biological systems. *Int J Radiat Biol* 69(1): 3-24.
- Brooks VL, Sved AF (2005). Pressure to change? Re-evaluating the role of baroreceptors in the long-term control of arterial pressure. *Am J Physiol* 288: 815-18.
- Brouwers S, Smolders I, Wainford RD, Dupont AG (2015). Hypotensive and sympathoinhibitory responses to selective central AT2 receptor stimulation in spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)* 129(1): 81-92.
- Cakir DU, Yokus B, Akdag MZ, Sert C, Mete N (2009). Alterations of hematological variations in rats exposed to extremely low frequency magnetic fields (50 Hz). *Arch Med Res* 40(5): 352-6.
- Campbell DJ, Duncan AM, Kladis A, Harrap SB (1995). Angiotensin peptides in spontaneously hypertensive and normotensive Donryu rats. *Hypertension* 25(5): 928-34.
- Campos LA, Couto AS, Iliescu R, Santos JA, Santos RA, Ganten D, Campagnole-Santos MJ, Bader M, Baltatu O (2004). Differential regulation of central vasopressin receptors in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Regul Pept* 119(3): 177-82.
- Campos LA, Iliescu R, Fontes MA, Schlegel WP, Bader M, Baltatu OC (2006). Enhanced isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in transgenic rats with low brain angiotensinogen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291(5): H2371-6

Carlson SH, Wyss JM (2008). Neurohormonal regulation of the sympathetic nervous system: new insights into central mechanisms of action. *Curr Hypertens Rep* 10(3): 233-40.

Casto R, Phillips MI (1984). A role for central angiotensin in regulation of blood pressure at the nucleus tractus solitarius. *Clin Exp Hypertens A* 6(10-11): 1933-7.

Casto R, Phillips MI (1986). Angiotensin II attenuates baroreflexes at nucleus tractus solitarius of rats. *Am J Physiol* 250(2 Pt 2): R193-8.

Cerutti C, Barres C, Paultre C (1994). Baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variabilities in rats: assessment by spectral analysis. *Am J Physiol* 266(5 Pt 2): H1993-2000.

Chan RK i Sawchenko PE (1998). Organization and transmitter specificity of medullary neurons activated by sustained hypertension: implications for understanding baroreceptor reflex circuitry. *The Journal of Neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 18: 371-87.

Chapleau MW, Abboud FM (1994). Modulation of baroreceptor activity by ionic and paracrine mechanisms: an overview. *Braz J Med Biol Res* 27(4): 1001-15.

Cottrell GT, Ferguson AV (2004). Sensory circumventricular organs: central roles in integrated autonomic regulation. *Regul Pept* 117(1): 11-23.

Dampney RA (1994). Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiol Rev* 74(2): 323-64.

Davern PJ, Head GA (2007). Fos-related antigen immunoreactivity after acute and chronic angiotensin II-induced hypertension in the rabbit brain. *Hypertension* 49(5): 1170-7.

De Kloet AD, Liu M, Rodríguez V, Krause EG, Sumners C (2015). Role of neurons and glia in the CNS actions of the renin-angiotensin system in cardiovascular control. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 309(5): R444-58.

De Luka SR, Ilić AŽ, Janković S, Djordjevich DM, Ćirković S, Milovanovich ID, Stefanović S, Vesković-Moračanin S, Ristić-Djurović JL, Trbovich AM (2016). Subchronic exposure to static magnetic field differently affects zinc and copper content in murine organs. *Int J Radiat Biol* 92(3): 140-7.

DiBona GF, Jones SY, Brooks VL (1995). ANG II receptor blockade and arterial baroreflex regulation of renal nerve activity in cardiac failure. *Am J Physiol* 269(5 Pt 2): R1189-96.

Dupont AG, Brouwers S (2010). Brain angiotensin peptides regulate sympathetic tone and blood pressure. *J Hypertens* 28(8):1599-610.

Djordjević DM, De Luka SR, Milovanović ID, Janković S, Stefanović S, Vesković-Moračanin S, Cirković S, Ilić AŽ, Ristić-Djurović JL, Trbović AM (2012). Hematological parameters' changes in mice subchronically exposed to static magnetic fields of different orientations. *Ecotoxicol Environ Saf* 81: 98-105.

Elferchichi M, Mercier J, Ammari M, Belguith H, Abdelmelek H, Sakly M, Lambert K (2015). Subacute static magnetic field exposure in rat induces a pseudoanemia status with increase in MCT4 and Glut4 proteins in glycolytic muscle. *Environ Sci Pollut Res Int* 23(2): 1265-73.

Elblbesy MA (2010). Effect of static magnetic field on erythrocytes characterizations. *Journal of biomedical science and engineering* 333040(03): 300-303.

Elghozi JL, Laude D, Girard A (1991). Effects of respiration on blood pressure and heart rate variability in humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 18(11): 735-42.

Farag E, Farag E, Sessler DI, Ebrahim Z, Kurz A, Morgan J, Ahuja S, Maheshwari K, John Doyle D (2017). The renin angiotensin system and the brain: New developments. *J Clin Neurosci* 46: 1-8.

Ferrario CM (2011). ACE2: more of Ang-(1-7) or less Ang II? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 20(1): 1-6.

Fink GD, Bruner CA, Mangiapane ML (1987). Area postrema is critical for angiotensin-induced hypertension in rats. *Hypertension* 9(4): 355-61.

Frohlich ED, Tarazi RC (1979). Is arterial pressure the sole factor responsible for hypertensive cardiac hypertrophy? *Am J Cardiol* 44(5): 959-63.

Fyhrquist O, Saijonmaa F (2008). Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med* 264(3): 224-36.

- Ganten D, Minnich JL, Granger P, Hayduk K, Brecht HM, Barbeau A, Boucher R, Genest J (1971). Angiotensin-forming enzyme in brain tissue. *Science* 173(3991): 64-5.
- Gao L, Zucker IH (2011). AT2 receptor signaling and sympathetic regulation. *Curr Opin Pharmacol* 11(2): 124-30.
- Ghodbane S, Lahbib A, Sakly M, Abdelmelek H (2013). Bioeffects of static magnetic fields: oxidative stress, genotoxic effects, and cancer studies. *Biomed Res Int* 2013: 602987.
- Gmitrov J, Ohkubo C (2002). Artificial static and geomagnetic field interrelated impact on cardiovascular regulation. *Bioelectromagnetics* 23(5): 329-38.
- Gmitrov J (2007). Static magnetic field effect on the arterial baroreflex-mediated control of microcirculation: implications for cardiovascular effects due to environmental magnetic fields. *Radiat Environ Biophys* 46(3): 281-90.
- Gmitrov J (2010). Static magnetic field blood pressure buffering, baroreflex vs. vascular blood pressure control mechanism. *Int J Radiat Biol* 86(2): 89-101.
- Gmitrov J (2013). Static magnetic field effect on microcirculation, direct versus baroreflex-mediated approach. *Int J Radiat Biol* 86(2): 89-101.
- Gmitrov J (2015). Baroreceptor stimulation enhanced nitric oxide vasodilator responsiveness, a new aspect of baroreflex physiology. *Microvasc Res* 98: 139-44.
- Grassi G, Turri C, Dell'Oro R, Stella ML, Bolla GB, Mancia G (1998a). Effect of chronic angiotensin converting enzyme inhibition on sympathetic nerve traffic and baroreflex control of the circulation in essential hypertension. *J Hypertens* 16(12 Pt 1): 1789-96.
- Grassi G, Cattaneo BM, Seravalle G, Lanfranchi A, Mancia G (1998b). Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension. *Hypertension* 31(1): 68-72.
- Griffith TM (2004). Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis? *Br J Pharmacol* 141(6): 881-903.

Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW (1934). Studies on experimental hypertension : I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 59(3): 347-79.

Gorczyńska i Wegrzynowicz (1983). The effect of magnetic fields on platelets, blood coagulation and fibrinolysis in guinea pigs. *Physiol Chem Phys Med NMR* 15(6): 459-68.

Gorczyńska E, Wegrzynowicz R (1986). Effect of chronic exposure to static magnetic field upon the serum glutamic pyruvic transaminase activity GPT and morphology of the cardiac muscle, skeletal muscles, kidneys, cerebellum and lung tissue in guinea pigs. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 30(3): 275-81.

Gutkind JS, Kurihara M, Castren E, Saavedra JM (1988). Increased concentration of angiotensin II binding sites in selected brain areas of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 6(1): 79-84.

Hales S (1733). *Statistical Essays: Containing haemasticks*, vol 2, Innys, Manby and WoodWard.

Hassan BF (2011). Subchronical effects of electromagnetic field exposure adult female rats on some hormonal, biochemical and hematological parameters. *Diyala Agricultural Sciences Journal* 3(1): 47-53.

Hashish AH, El-Missiry MA, Abdelkader HI, Abou-Saleh RH (2008). Assessment of biological changes of continuous whole body exposure to static magnetic field and extremely low frequency electromagnetic fields in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 71(3): 895-902.

Healy DP, Rettig R, Printz MP (1984). Evidence of an endogenous Ang II system in the rat nucleus tractus solitarius. *Clin Exp Hypertens A* 6(10-11): 1743-7.

Higashi T, Sagawa S, Kawaguchi N, Yamagishi A (1993). Effects of a strong static magnetic field on blood platelets. *Platelets* 4(6): 341-2.

Higashi T, Yamagishi A, Takeuchi T, Kawaguchi N, Sagawa S, Onishi S, Date M (1993). Orientation of erythrocytes in a strong static magnetic field. *Blood* 82(4): 1328-34.

Hinman MR (2002). Comparative effect of positive and negative static magnetic fields on heart rate and blood pressure in healthy adults. *Clin Rehabil* 16(6): 669-74.

Hore PJ, Mouritsen H (2016). The Radical-Pair Mechanism of Magnetoreception. *Annu Rev Biophys* 45: 299-344.

Hughes S, El Haj AJ, Dobson J, Martinac B (2005). The influence of static magnetic fields on mechanosensitive ion channel activity in artificial liposomes. *Eur Biophys J* 34(5): 461-8.

ICNIRP (1994). Guidelines on limits of exposure to static magnetic fields. *Health Phys* 66(1): 100-106.

Japundzic-Zigon N (1998). Physiological mechanisms in regulation of blood pressure fast frequency variations. *Clin Exp Hypertens* 20(4): 359-88.

Japundzić-Zigon N (2002). An update on blood pressure short-term variability. *Scientific World Journal* 2: 320-3.

Japundzic N, Grichois ML, Zitoun P, Laude D, Elghozi JL (1990). Spectral analysis of blood pressure and heart rate in conscious rats: effects of autonomic blockers. *J Auton Nerv Syst* 30(2): 91-100.

Just A, Wittmann U, Nafz B, Wagner CD, Ehmke H, Kirchheim HR, Persson PB (1994). The blood pressure buffering capacity of nitric oxide by comparison to the baroreceptor reflex. *Am J Physiol* 267(2 Pt 2): H521-7.

Kai H, Kudo H, Takayama N, Yasuoka S, Aoki Y, Imaizumi T (2014). Molecular mechanism of aggravation of hypertensive organ damages by short-term blood pressure variability. *Curr Hypertens Rev* 10(3): 125-33.

Kanal E, Gillen J, Evans JA, Savitz DA, Shellock FG (1993). Survey of reproductive health among female MR workers. *Radiology* 187(2): 395-9.

Kurzeja E, Synowiec-Wojtarowicz A, Stec M, Glinka M, Gawron S, Pawłowska-Góral K (2013). Effect of a static magnetic fields and fluoride ions on the antioxidant defense system of mice fibroblasts. *Int J Mol Sci* 14(7): 15017-28.

Langager AM, Hammerberg BE, Rotella DL, Stauss HM (2007). Very low-frequency blood pressure variability depends on voltage-gated L-type Ca²⁺ channels in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292(3): H1321-7.

La Rovere MT, Bigger JT Jr, Marcus FI, Mortara A, Schwartz PJ (1998). Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Lancet* 351(9101): 478-84.

La Rovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH, Marcus FI, Mortara A, Nohara R, Bigger JT Jr, Camm AJ, Schwartz PJ; ATRAMI Investigators. Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction (2001). Baroreflex sensitivity and heart rate variability in the identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Circulation* 103(16): 2072-7.

Lenkei Z, Palkovits M, Corvol P, Llorens-Cortès C (1997). Expression of angiotensin type-1 (AT1) and type-2 (AT2) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. *Front Neuroendocrinol* 18(4): 383-439.

Levine RL, Bluni TD (1994). Magnetic field effects on spatial discrimination learning in mice. *Physiol Behav* 55(3): 465-7.

Levy BI (2005). How to explain the differences between renin angiotensin system modulators. *Am J Hypertens* 18(9 Pt 2) :134S-141S.

Lozić M, Tasić T, Martin A, Greenwood M, Šarenac O, Hindmarch C, Paton JF, Murphy D, Japundžić-Žigon N (2016). Over-expression of V1A receptors in PVN modulates autonomic cardiovascular control. *Pharmacol Res* 114: 185-195.

Ludwig C (1847). Beitrage zur Kenntnis des Einflusses der Respirationsbewegungen auf den Blutumlauf im Aortensystem. *Arch Anat Physiol* 242.

Malliani A (2005). Heart rate variability: from bench to bedside. *Eur J Intern Med* 16(1): 12-20.

- Man D, Man B, Plosker H (1999). The influence of permanent magnetic field therapy on wound healing in suction lipectomy patients: a double-blind study. *Plast Reconstr Surg* 104(7): 2261-6.
- Mancia G, Di Rienzo M, Parati G, Grassi G (1997). Sympathetic activity, blood pressure variability and end organ damage in hypertension. *J Hum Hypertens* 11 Suppl 1: S3-8.
- Mancia G, Parati G (2003). The role of blood pressure variability in end-organ damage. *J Hypertens Suppl* 21(6): S17-23.
- Mancia G, Giannattasio C, Pozzi M (1994a). Cardiovascular and renal disease in untreated and treated hypertension. *Contrib Nephrol* 109: 65-9.
- Mancia G, Frattola A, Parati G, Santucci C, Ulian L (1994b). Blood pressure variability and organ damage. *J Cardiovasc Pharmacol* 24 Suppl A: S6-11.
- Mancia G, Parati G, Pomidossi G, Grassi G, Bertinieri G, Buccino N, Ferrari A, Gregorini L, Rupoli L, Zanchetti A (1982). Modification of arterial baroreflexes by captopril in essential hypertension. *Am J Cardiol* 49(6): 1415-9.
- Marsh JL, Armstrong TJ, Jacobson AP, Smith RG (1982). Health effects of occupational exposure to steady magnetic fields. *Am Indust Hyg Assoc J* 43:387.
- Matsumura K, Averill DB, Ferrario CM (1998). Angiotensin II acts at AT1 receptors in the nucleus of the solitary tract to attenuate the baroreceptor reflex. *Am J Physiol* 275(5): R1611-9.
- Matsumura K, Averill DB, Ferrario CM (1999). Role of AT1 receptors in area postrema on baroreceptor reflex in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 850(1-2): 166-72.
- McKay JC, Prato FS, Thomas AW (2007). A literature review: The effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bio Electro Magnetism* 28(2): 81-98.
- McKinley MJ, Albiston AL, Allen AM, Mathai ML, May CN, McAllen RM, Oldfield BJ, Mendelsohn FA, Chai SY (2003). The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. *Int J Biochem Cell Biol* 35(6): 901-18.

Milovanovich ID, Ćirković S, De Luka SR, Djordjevich DM, Ilić AŽ, Popović T, Arsić A, Obradović DD, Oprić D, Ristić-Djurović JL, Trbovich AM (2016). Homogeneous static magnetic field of different orientation induces biological changes in subacutely exposed mice. *Environ Sci Pollut Res Int.* 23(2): 1584-97.

Milutinović S, Murphy D, Japundžić-Zigon N (2006). The role of central vasopressin receptors in the modulation of autonomic cardiovascular controls: a spectral analysis study. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291(6): R1579-91.

Mitsutake G, Otsuka K, Oinuma S, Ferguson I, Cornélissen G, Wanliss J, Halberg F (2004). Does exposure to an artificial ULF magnetic field affect blood pressure, heart rate variability and mood? *Biomed Pharmacother* 58 Suppl 1: S20-7.

Monzen S, Takahashi K, Toki T, Ito E, Sakurai T, Miyakoshi J, Kashiwakura I (2009). Exposure to a MRI-type high-strength static magnetic field stimulates megakaryocytic/erythroid hematopoiesis in CD34+ cells from human placental and umbilical cord blood. *Bioelectromagnetics* 30(4): 280-5.

Murayama M (1965). Orientation of sickled erythrocytes in a magnetic field. *Nature* 35(3): 159-69.

Nap A, Balt JC, Mathy MJ, Van Zwieten PA (2003). AT(1)-receptor blockade and sympathetic neurotransmission in cardiovascular disease. *Auton Autacoid Pharmacol* 23(5-6): 285-96.

Narkiewicz K, Grassi G (2008). Impaired baroreflex sensitivity as a potential marker of cardiovascular risk in hypertension. *J Hypertens* 26: 1303-1304.

Okano H (2008). Effects of static magnetic fields in biology: role of free radicals. *Front Biosci* 13: 6106-25.

Okano H, Masuda H, Ohkubo C (2005). Decreased plasma levels of nitric oxide metabolites, angiotensin II, and aldosterone in spontaneously hypertensive rats exposed to 5 mT static magnetic field. *Bioelectromagnetics* 26(3): 161-72.

Okano H, Ohkubo C (2001). Modulatory effects of static magnetic fields on blood pressure in rabbits. *Bioelectromagnetics* 22(6): 408-18.

Okamoto K, Aoki K (1963). Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27: 282-93.

Oliverio MI, Best CF, Kim HS, Arendshorst WJ, Smithies O, Coffman TM (1997). Angiotensin II responses in AT1A receptor-deficient mice: a role for AT1B receptors in blood pressure regulation. *Am J Physiol* 272(4 Pt 2): F515-20.

Oz O, Eliash S, Cohen S, Akselrod S (1995). Insight into blood-pressure control in SHR via the response to acute hemorrhage: a spectral analysis approach. *J Auton Nerv Syst* 55(3): 146-54.

Page IH, Helmer OM (1940). A crystalline pressor substance (angiotonin) resulting from the reaction between renin and renin-activator. *J Exp Med* 71(1): 29-42.

Philpott WH, Kalita DK, Goldberg B (2000). *Magnet therapy: Its history around the world*. AlternativeMedicine.com Books, Tiburon, CA, USA.

Politański P, Rajkowska E, Brodecki M, Bednarek A, Zmyślony M (2013). Combined effect of X-ray radiation and static magnetic fields on reactive oxygen species in rat lymphocytes in vitro. *Bioelectromagnetics* 34(4): 333-6.

Ponchon P, Grichois ML, Elghozi JL (1993). Effect of losartan on short-term variability of blood pressure of renovascular hypertensive rats: a spectral study. *J Hypertens Suppl* 11(5): S244-5.

Ragan HA, Buschbom RL, Pipes MJ, Phillips RD, Kaune WT (1983). Hematologic and serum chemistry studies in rats exposed to 60-Hz electric fields. *Bioelectromagnetics* 4(1): 79-90.

Rockette HE, Arena VC (1983). Mortality studies of aluminium reduction plant workers: potroom and carbon department. *J Occup Med* 25: 549-557.

Rodgers CT (2009). Magnetic field effects in chemical systems. *Pure Appl Chem* 81(1): 19-43.

Rosen AD (2003). Mechanism of action of moderate-intensity static magnetic fields on biological systems. *Cell Biochem Biophys* 39(2): 163-73.

Ruchaya PJ, Speretta GF, Blanch GT, Li H, Summers C, Menani JV, Colombari E, Colombari DS (2016). Overexpression of AT2R in the solitary-vagal complex improves baroreflex in the spontaneously hypertensive rat. *Neuropeptides* 60: 29-36.

Ruiz P, Basso N, Cannata MA, Taquini AC. The renin-angiotensin system in different stages of spontaneous hypertension in the rat (S H R) (1990). *Clin Exp Hypertens A* 12(1): 63-81.

Sabo J, Mirossay L, Horovcak L, Sarissky M, Mirossay A, Mojzis J (2002). Effects of static magnetic field on human leukemic cell line HL-60. *Bioelectrochemistry* 56(1-2): 227-31.

Sarvestani AS, Abdolmaleki P, Mowla SJ, Ghanati F, Heshmati E, Tavasoli Z, Jahromi AM (2010). Static magnetic fields aggravate the effects of ionizing radiation on cell cycle progression in bone marrow stem cells. *Micron* 41(2): 101-4.

Savitz DA, Liao D, Sastre A, Kleckner RC, Kavet R (1999). Magnetic field exposure and cardiovascular disease mortality among electric utility workers. *Am J Epidemiol* 149(2): 135-42.

Schinke M, Baltatu O, Böhm M, Peters J, Rascher W, Bricca G, Lippoldt A, Ganten D, Bader M (1999). Blood pressure reduction and diabetes insipidus in transgenic rats deficient in brain angiotensinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(7): 3975-80.

Segal NA, Toda Y, Huston J, Saeki Y, Shimizu M, Fuchs H, Shimaoka Y, Holcomb R, McLean MJ (2001). Two configurations of static magnetic fields for treating rheumatoid arthritis of the knee: a double-blind clinical trial. *Arch Phys Med Rehabil* 82(10): 1453-60.

Sert C, Aktı Z, Sirmatel O, Yılmaz R (2010). An investigation of the heart rate, heart rate variability, cardiac ions, troponin-I and CK-MB in men exposed to 1.5 T constant magnetic fields. *Gen Physiol Biophys* 29(3): 282-7.

Shan Z, Shi P, Cuadra AE, Dong Y, Lamont GJ, Li Q, Seth DM, Navar LG, Katovich MJ, Summers C, Raizada MK (2010). Involvement of the brain (pro)renin receptor in cardiovascular homeostasis. *Circ Res* 107(7): 934-8.

Sihem C, Hafedh A, Mohsen S, Marc PJ, Khmais BR (2006). Effects of sub-acute exposure to magnetic field on blood hematological and biochemical parameters in female rats. *Turk J Haematol* 23(4): 182-7.

Skeggs LT, Dorer FE, Kahn JR, Lentz KE, Levine M (1976). The biochemistry of the renin-angiotensin system and its role in hypertension. *Am J Med* 60(6): 737-48.

Stauss HM (2007). Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34(4): 362-8.

Stauss HM, Persson PB (2000). Role of Nitric Oxide in Buffering Short-Term Blood Pressure Fluctuations. *News Physiol Sci* 15: 229-233.

Stojčić S, Milutinović S, Sarenac O, Zivković S, Japundžić-Zigon N (2006). Central vasopressin V(1a) and V(1b) receptors modulate the cardiovascular response to air-jet stress in conscious rats. *Biomed Tech (Berl)* 51(4): 268-71.

Souza HC, Ballejo G, Salgado MC, Da Silva VJ, Salgado HC (2001). Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280(2): H844-50.

Tan PS, Killinger S, Horiuchi J, Dampney RA (2007). Baroreceptor reflex modulation by circulating angiotensin II is mediated by AT1 receptors in the nucleus tractus solitarius. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293(6): R2267-78.

Tarazi RC, Levy MN (1982). Cardiac responses to increased afterload. State-of-the-art review. *Hypertension* 4(3 Pt 2): 8-18.

Tenuzzo B, Chionna A, Panzarini E, Lanubile R, Tarantino P, Di Jeso B, Dwikat M, Dini L (2006). Biological effects of 6 mT static magnetic fields: a comparative study in different cell types. *Bioelectromagnetics* 27(7): 560-77.

Tofani S, Barone D, Cintorino M, de Santi MM, Ferrara A, Orlassino R, Ossola P, Peroglio F, Rolfo K, Ronchetto F (2001). Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis. *Bioelectromagnetics* 22(6): 419-28.

Traube L (1865). Über periodische Tätigkeitsänderungen des Vasomotorischen und Hemmungs-Nervenzentrums. *Cbl Med Wiss* 56, p.881-885.

Tigersted R, Bergam PQ (1898). Niere und Kreislauf. *Skandinavisches Archiv. Physiologie* banner.

Ufnal M, Skrzypecki J (2014). Blood borne hormones in a cross-talk between peripheral and brain mechanisms regulating blood pressure, the role of circumventricular organs. *Neuropeptides* 48(2): 65-73.

Wang DS, Xie HH, Shen FM, Cai GJ, Su DF (2005). Blood pressure variability, cardiac baroreflex sensitivity and organ damage in experimentally hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32(7):545-52.

Weller RO (1979). Vascular pathology in hypertension. *Age Ageing* 8(2): 99-103.

Wieraszko A (2000). Dantrolene modulates the influence of steady magnetic fields on hippocampal evoked potentials in vitro. *Bioelectromagnetics* 21(3): 175-82.

World Health Organization (2006). *Static Fields (Environmental Health Criteria: 232)*. Geneva. Switzerland.

Xu S, Tomita N, Ohata R, Yan Q, Ikada Y (2001). Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model. *Biomed Mater Eng* 11(3): 257-63.

Young CN, Davisson RL (2015). Angiotensin-II, the Brain, and Hypertension: An Update. *Hypertension* 66(5): 920-6.

Zhao G, Chen S, Wang L, Zhao Y, Wang J, Wang X, Zhang W, Wu R, Wu L, Wu Y, Xu A (2011). Cellular ATP content was decreased by a homogeneous 8.5 T static magnetic field exposure: role of reactive oxygen species. *Bioelectromagnetics* 32(2): 94-101.

Zmysłony M, Palus J, Jajte J, Dziubałtowska E, Rajkowska E (2000). DNA damage in rat lymphocytes treated in vitro with iron cations and exposed to 7 mT magnetic fields (static or 50 Hz). *Mutat Res* 453(1): 89-96.

Zmysłony M, Palus J, Dziubałtowska E, Politański P, Mamrot P, Rajkowska E, Kameduła M (2004). Effects of in vitro exposure to power frequency magnetic fields on UV-induced DNA damage of rat lymphocytes. *Bioelectromagnetics* 25(7): 560-2.

BIOGRAFIJA

Tatjana L. Tasić rođena je 08.12.1981. godine u Užicu. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je upisala 2000/01 god. Diplomirala je januara 2008. god. sa prosečnom ocenom 8,54. Stručni ispit položila je 30.9.2008. god., a od decembra 2008. do aprila 2010. god. je volontirala na odeljenju Hematologije KBC Bežanijska kosa.

U februaru 2011.god. zasniva radni odnos na Medicinskom fakultetu u Beogradu u statusu istraživača pripravnika radi obavljanja istraživačke delatnosti na interdisciplinarnom projektu III 41013, Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj "Funkcionalna genomika hipotalamusa i medule u hipertenziji indukovanoj hroničnim stresom", pod rukovodstvom prof. dr Nine Japundžić-Žigon.

Tatjana L. Tasić je honorarno bila angažovana kao saradnik u nastavi na predmetu Opšta i oralna histologija i embriologija na Stomatološkom fakultetu u Beogradu od aprila 2010 do septembra 2011. Honorarno je bila angažovana kao saradnik u nastavi na predmetu Forenzička medicina i medicinsko pravo od 2011 do jula 2017. Od 1.7.2017. zaposlene je kao asistent na predmetu Forenzička medicina i medicinsko pravo na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Do sada je kao autor i koautor objavila 7 naučnih radova i učestvovala na 19 međunarodnih simpozijuma.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Tatjana Tasić

broj upisa MM 21/11

Izjavljujem

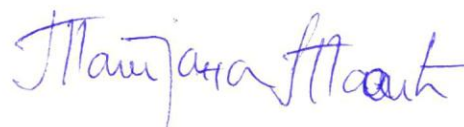
da je doktorska disertacija pod naslovom

"Uticaj stalnog magnetnog polja na neurogenu kontrolu cirkulacije spontano hipertenzivnih pacova i ekspresiju receptora angiotenzina II u jedru solitarnog trakta."

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 06.05.2019.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora _____ Tatjana Tasić _____

Broj upisa _____ 21/11 _____

Studijski program _____ Molekularna medicina _____

Naslov rada ___"Uticaj stalnog magnetnog polja na neurogenu kontrolu cirkulacije spontano hipertenzivnih pacova i ekspresiju receptora angiotenzina II u jedru solitarnog trakta." _____

Mentor ___Prof. Dr Nina Japundžić- Žigon _____

Potpisani _____ Tatjana Tasić _____

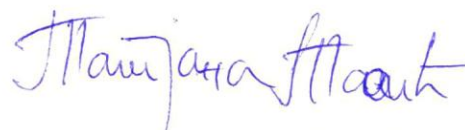
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 06.05.2019.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Uticaj stalnog magnetnog polja na neurogenu kontrolu cirkulacije spontano hipertenzivnih pacova i ekspresiju receptora angiotenzina II u jedru solitarnog trakta."

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 06.05.2019.

