

Učinak pentadekapeptida BPC 157 na tubularnu nekrozu u štakora izazvanu gentamicinom

Vukoja, Ivan

Doctoral thesis / Disertacija

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:944883>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-26**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivan Vukoja

**Učinak pentadekapeptida BPC 157 na
tubularnu nekrozu u štakora izazvanu
gentamicinom**

DISERTACIJA



Zagreb, 2019.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Ivan Vukoja

**Učinak pentadekapeptida BPC 157 na
tubularnu nekrozu u štakora izazvanu
gentamicinom**

DISERTACIJA

Zagreb, 2019.

Disertacija je izrađena u ZAVODU ZA FARMAKOLOGIJU MEDICINSKOG
FAKULTETA SVEUČILIŠTA U ZAGREBU.

VODITELJ RADA: Prof. dr. sc. Predrag Sikirić

Iskrenu zahvalnost na ukazanoj podršci, uloženom trudu, strpljivosti i nesebičnoj pomoći iskazujem mentoru prof.dr.sc. Predragu Sikiriću, bez koga ovaj znanstveni rad ne bi bio moguć. Posebnu zahvalnost dugujem dr.sc. Ivanu Barišiću zbog savjeta i iznimne pomoći u izvođenju ovog znanstvenog istraživanja, kao i svim djelatnicima Službe za internu medicinu Opće županijske bolnice Požega na strpljenju i potpori. Također posebnu zahvalu izražavam kolegi Peri Hrabaču zbog opsežne statističke analize i kolegici Mireli Frančini zbog patohistološke obrade preparata. Zahvaljujem i svim djelatnicima Zavoda za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na neizmjerne pomoći u radu s laboratorijskim životinjama. Osim toga, zahvaljujem prof.dr.sc. Željku Glaviću na financiranju poslijediplomskog studija te prof.dr.sc. Mirjani Kujundžić Tiljak što me potakla da se angažiram oko završavanja disertacije.

Disertaciju posvećujem obitelji, uz posebnu zahvalu mojoj supruzi za ljubav, razumijevanje i toleranciju, te mojim roditeljima na odgoju i usađenim vrlinama.

Non progredi, est regredi!

Popis oznaka i kratica

- a. – arterija
- aa. – arterije
- ALT - alanin transaminaza
- AOB – akutno oštećenje bubrega
- Arg - L-arginin
- AST - aspartat transaminaza
- ATP – adenzin trifosfat
- BPC 157 – engl. body protective compound 157, pentadekapeptid
- b.w. - body weight, tjelesna težina
- Ca – kalcij
- CaSR – osjetljivi receptor izvanstaničnog kalcija
- CAT - katalaza
- CCK - kolecistokinin
- CGRP - calcitonin gene related peptide, peptid povezan sa calcitonin genom
- COX - enzim ciklooksigenaza
- CX3CL1 - fraktalkin
- CYTO c – citokrom c
- DC - dendritičke stanice
- EDRF - endotel derived releasing factor, čimbenik koji potječe iz endotela
- EGF – engl. epidermal growth factor
- ER - endoplazmatski retikulum
- egr1 – engl. early growth response 1 gene
- engl. – engleski
- ET - endotelin
- FO – fiziološka otopina (0.9% NaCl)
- g – gram
- G – gauge (jedinica za veličinu igle)
- GI – gastrointestinalni
- GRP - gastrin-releasing peptide, gastrin oslobađajući peptid
- GT - glutation
- GPx - glutation peroksidaza glutation-S-transferaze
- GST - glutation-S-transferaza

h - sat

ICAM-1 - intercelularna prijanjajuća molekule 1

i.p. - intraperitonealno

IGF – engl. insulin-like growth factor

IL - interleukin

iNOS – inducibilna dušik oksid sintetaza

IR – ishemijsko reperfuzijska ozljeda

kg – kilogram

l – litra

LD - letalna doza

L-arginin – donator dušične skupine dušik oksid sintetazi, prekursor dušičnog oksida

L-NAME – NG-nitro-L-arginin metil ester, kompetitivni inhibitor dušik oksid sintetaze

LNAME - L-NAME

LPO - lipidna peroksidaza

µg - mikrogram

mEq – miliekvivalent

mg - miligram

min - minuta

ml – mililitar

mmHg – milimetara stupca žive

mmol – milimol

naB2 – engl. nerve growth factor 1-A binding protein

ng - nanogram

NGF - engl. nerve growth factor

NKT - T-stanice prirodne ubojice (engl. Natural killers T cells)

nNOS – neuronalna dušik oksid sintetaza

NO – dušik (II) oksid, dušikov oksid

NOS – dušik oksid sintetaza

NSAR - nesteroidni protuupalni lijekovi

P - fosfat

p.o. - peroralno

pogl. - poglavlje

PDGF – engl. platelet-derived growth factor

PG - prostaglandini

PPAR α – peroksisom proliferacijski aktivirani receptor- α ;

ROS – reaktivni kisikovi radikali

S.D. – Standardna devijacija

SH - sulfhidrili

SOD - superoksid dizmutaze

sl. – slika

tbl. – tablica

TGF- β – eng. transforming growth factor beta

THP - Tamm-Horsfallov proteina

TRH - tireotropin-oslobađajući hormon

UPR - mehanizam nekontrolirajućeg oslobađanja proteina

v. – vena

VEGF – engl. vascular endothelial growth factor

vv. – vene

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. LITERATURNI PREGLED	1
1.1.1. Anatomija i fiziologija bubrega	1
1.1.2. Akutno bubrežno oštećenje	3
1.1.3. Aminoglikozidna nefrotoksičnost	4
1.1.4. Oksidativni i nitrozativni stres i utjecaj na stanice	7
1.1.5. Upalne promjene u akutnom oštećenju bubrega	9
1.2. NO SUSTAV	10
1.3. PENTADEKAPEPTID BPC 157	11
1.3.1. Sastav i sinteza	11
1.3.2. BPC 157 - osnovne spoznaje	12
1.3.3. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na različita tkiva i organske sustave	13
1.3.4. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na urinarni sustav	14
1.3.5. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na elektrolitski status i srčane aritmije	15
1.3.6. Odnos pentadekapeptida BPC 157 i NO sustava	15
2. HIPOTEZA	17
3. CILJEVI RADA	17

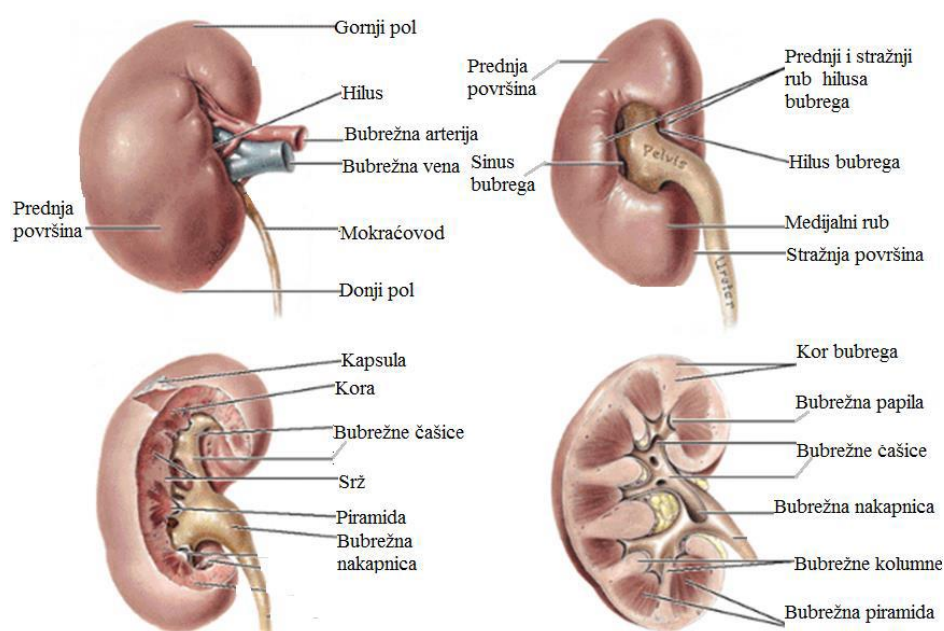
3.1.	Opći cilj	17
3.2.	Specifični ciljevi	17
4.	MATERIJALI I METODE	18
4.1.	Životinje	18
4.2.	Agensi	18
4.3.	Eksperimentalni protokol	19
4.4.	Vrednovanje učinka	21
4.4.1.	Klinički izgled životinja	21
4.4.2.	Dnevna diureza	22
4.4.3.	Elektrokardiogram	23
4.4.4.	Biokemijska analiza	24
4.4.5.	Makroskopska analiza	24
4.4.6.	Patohistološka analiza	25
4.5.	Statistička analiza	25
5.	REZULTATI	26
5.1.	Klinički izgled životinja	27
5.2.	Dnevna diureza	30
5.3.	Elektrokardiogram	41
5.3.	Biokemijska analiza	41

5.4. Makroskopska analiza	55
5.5. Patohistološka analiza	58
5.6. Statistička analiza	63
6. RASPRAVA	80
7. ZAKLJUČAK	84
8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU	85
9. KRATKI SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU	86
10. POPIS LITERATURE	87
11. ŽIVOTOPIS	98

1.1. LITERATURNI PREGLED

1.1.1. Anatomija i fiziologija bubrega

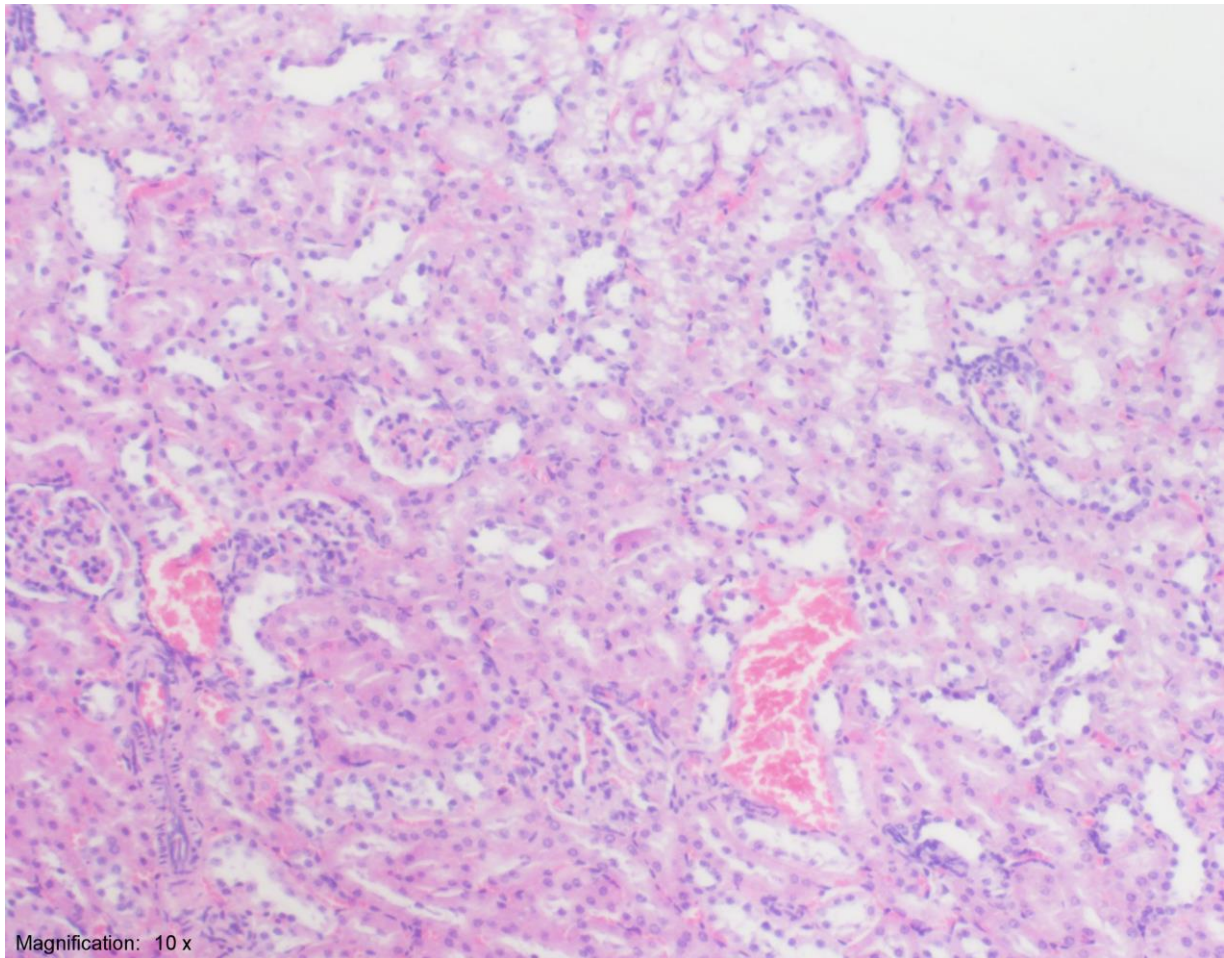
Bubrezi su parni organ smješteni retroperitonealno u lumbalnim ložama, simetrično s lijeve i desne strane. Prosječne dimenzije iznose 120x60x30 mm, a prosječna masa oko 150 - 160 grama. Zdrav je bubreg crvenkastosmeđe boje i glatke površine, a razlikujemo prednju i stražnju stranu, kao i gornji i donji pol bubrega. Na medijalnoj strani oba bubrega nalazi se hilus koji predstavlja mjesto na kojem započinje sustav odvodnje mokraćnih kanala, te mjesto ulaza i izlaza krvnih i limfnih žila kao i živaca [1].



Slika 1: Oblik i građa bubrega s pripadajućim strukturama.

Preuzeta je iz disertacije dr. Filipovića [1]

Prerezani bubreg sadrži svjetliju koru i tamniju srž, koja je građena je od 10-12 jedinica koje se zovu bubrežne piramide, dok se kora nalazi periferno. Na granici između kore i srži nalazi se baza piramide te se konično suzuje i završava papilom koja strši u nakapnicu, odnosno ljevkastu gornju dio mokraćovoda.

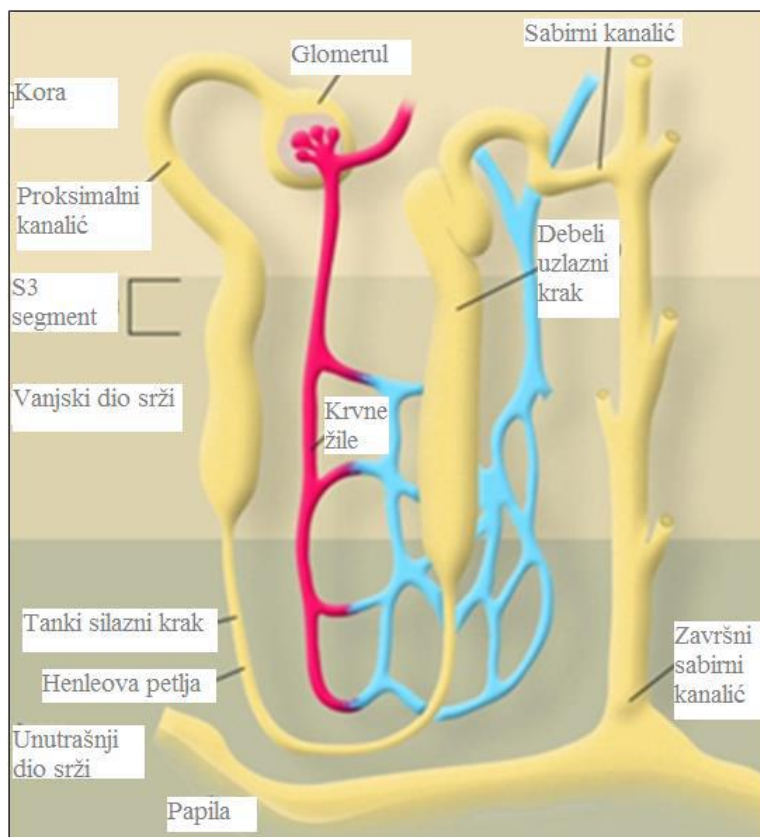


Slika 2: Mikroskopska snimka zdravog bubrega.

Glomerul s Bowmanovom čahurom, krvnim žilama i proksimalnim tubulima. HE, povećanje 10x.

Osnovna funkcionalna jedinica svakog bubrega jest nefron, koji se sastoji od glomerula kroz koji se filtrira krv i tubula u kojem se filtrirana tekućina iz krvi pretvara u mokraću. U prosjeku, svaki bubreg sadrži milijun nefrona, a zbog nemogućnosti regeneracije, zdravi ostatni nefroni mogu hipertrofirati. Na početku svakog nefrona nalazi se glomerul (Malpighijevo tjelešće) koje se sastoji od klupka krvnih kapilara, a ovijeno je ovijeno Bowmanovom čahurom. Krv u bubreg dolazi bubrežnom arterijom koja se grana do dovodne arteriole koja krv dovodi u glomerul, a odvodnom arteriolom odlazi peritubularne kapilare, prateći bubrežne tubule. One se nastavljaju u venski sustav bubrega, a spajanjem tvore bubrežnu venu. Bowmanova čahura sastoji se od jednoslojnog pločastog epitela koji tvori unutarnji list koji oblaže glomerul i vanjski koji se nastavlja u stjenku kanalića. Kanalići (tubuli) se sastoje od proksimalnog i distalnog zavijenog kanalića te Henleove petlje. Ravni

se sabirni kanalići nastavljaju na distalni dio zavijenog kanalića, a postupnim spajanjem postaju deblji i otvaraju se na papilama piramida, odakle se urin izlučuje u male bubrežne čašice, koje spajanjem tvore velike bubrežne čašice koje ulaze u nakapnicu koja predstavlja početak uretera. Osnovne su funkcije bubrega stvaranje mokraće te sposobnost izlučivanja otpadnih tvari i metaboličkih razgradnih produkata, zatim koncentriranje urina i održavanje ravnoteže vode i elektrolite uz acidobaznu ravnotežu. Osim navedenog, proizvode eritropoetin i sudjeluju u proizvodnji vitamina D3 kao i sintezi glukoze, ali i brojnih hormona s parakrinim djelovanjem.



Slika 3: Smještaj kanalića kroz dijelove bubrega.

Slika preuzeta iz disertacije dr. Filipovića [1].

1.1.2. Akutno bubrežno oštećenje

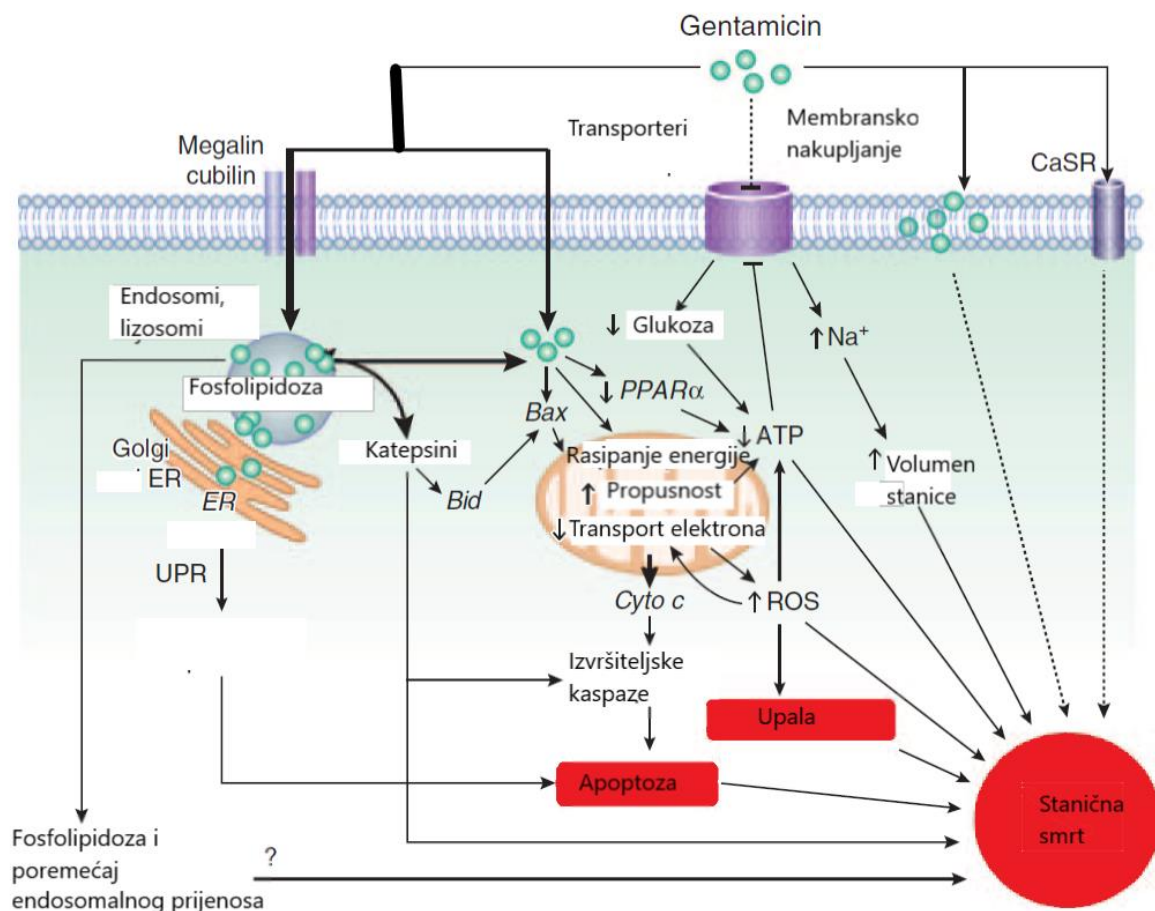
Akutno oštećenje bubrega (AOB) klinički je sindrom karakteriziran naglim gubitkom jedne od bubrežnih funkcija, bilo smanjenjem glomerularne filtracije, smanjenjem protoka krvi kroz bubrege, ekskretorne funkcije i/ili porasta produkata metabolizma i dušičnih elemenata u krvi. Patofiziološke promjene AOB događaju se u imunologiji i promjenama bubrežnih

krvnih žila i kanalića [2]. AOB u ovom opisu ne uključuje oštećenje uzrokovano prerenalnim i postrenalnim zbivanjima.

1.1.3. Aminoglikozidna nefrotoksičnost

U gotovo petine slučajeva AOB uzrok su fizikalni i kemijski agensi, a značajan dio uzroka AOB otpada na aminoglikozidnu nefrotoksičnost. Gentamicin se nakuplja u kori bubrega i uzrokuje slične patomorfološke promjene u ljudi i eksperimentalnih životinja [3]. Patogeneza aminoglikozidne nefrotoksičnosti kreće od male veličine same čestice koja se u potpunosti filtrira kroz glomerularnu membranu te od njenog afiniteta prema fosfatidil inozitol bisfosfatu na apikalnoj membrani stanica proksimalnih tubula [4] u čijim se stanicama zadržava gotovo 5% ukupno unesenih molekula mehanizmom pinocitoze [5-8]. Aminoglikozidi se prvo vežu na kisele fosfolipide stanica apikalne membrane, zatim preko transmembranskog proteina megalina ulaze u endosome [9-11]. Megalin se kao transmembranski protein nalazi osim na apikalnim membranama stanica tubula bubrega i na nekim drugim epitelnim stanicama, primjerice retinalnim i stanicama unutarnjeg uha. Gentamicin manjim dijelom ulazi i preko kalcijski osjetljivog receptora (CaSR), posebno osjetljivog na ekstracelularni kalcij te putem procesa fosfolipidoze, odnosno vezivanjem za membranske fosfolipide, što dovodi do smetnji provođenja fosfatidil inozitolskog puta i gubitka negativnog naboja stanice [3]. Zatim slijedi intracelularna akumulacija lijeka u obliku endosomalnih i lizosomalnih vakuola te unutar Golgijevog aparata i endoplazmatskog retikuluma, nakon čega nastupa oštećenje, još u potpunosti nerazjašnjenim mehanizmom. Jedan od mogućih mehanizama pretpostavlja da aminoglikozidi postanu toksični nakon otpuštanja iz lizosoma ovisno o njihovoj tkivnoj akumulaciji i lizosomalnoj alteraciji uzrokujući inhibiciju mitohondrijske respiracije i Ca^{2+} transporta ili lipidne peroksidacije. Drugi pak mehanizam djelovanja veže se uz indirektnu nefrotoksičnost aminoglikozida koji keliraju mitohondrijsko željezo u vrlo oksidirajući spoj željezo(II) – gentamicin koji može uzrokovati smrt stanica apikalne membrane [12]. Treći mehanizam toksičnosti nastaje kada aminoglikozidi pohranjeni u lizosomima dosegnu kritičnu koncentraciju i izlazeći iz lizosoma imaju nelizosomski učinak toksičnosti prvenstveno na apikalnu i bazolateralnu membranu remeteći kotransport natrija i fosfora s natrijem i vodikom na apikalnim mebranama stanica proksimalnih tubula, ali i inhibirajući Na-K-ATPazu nakon što dospiju u citoplazmu [5-8]. Upravo mehanizam nekontrolirajućeg oslobađanja proteina (UPR) uzrokuje apoptozu [13] koja je provedena klasičnim putem kalpaina i kaspaze 12/4 koju aktivira oslobođen kalcij iz

ER, a ali i UPR aktivacijom Jun kinaze i C/EBP homolognog protein transkripcijskog faktora [14-17]. Kad se aktiviraju, ovi enzimi pokreću preteolitičku kaskadu izvršnih kaspaza i pokreću mitohondrijski put apoptoze [17,18]. Gentamicin inhibira i membranske proteine i transportere poput natrij – fosfor kotransportera i natrij – vodik izmjenjivača [19], dipeptidne transportere [10], elektrogeni natrijev transporter [20] i natrij kalij ATP-azu [21]. Zbog velike metaboličke aktivnost uslijed brojnih transmembranskih transportnih mehanizama ovisnih o ATP-u promjene su najizraženije u proksimalnim tubulima [1]. Javlja se promjena citoskeleta stanica proksimalnih tubula koje su povezane s premještanjem Na⁺/K⁺-ATPaze od bazolateralnog do apikalnog dijela stanice, što objašnjava pad tubularne reapsorpcije natrija i brzog porasta koncentracije intracelularnog kalcija [1]. Navedeno uzrokuje smanjenje istiskivanja natrija te njegova unutarstaničnog suviška što uzrokuje smanjenje dostupnosti unutarstanične glukoze i redukciji ATP-a, što dovodi do edema stanice i naposljetku nekroze [3].

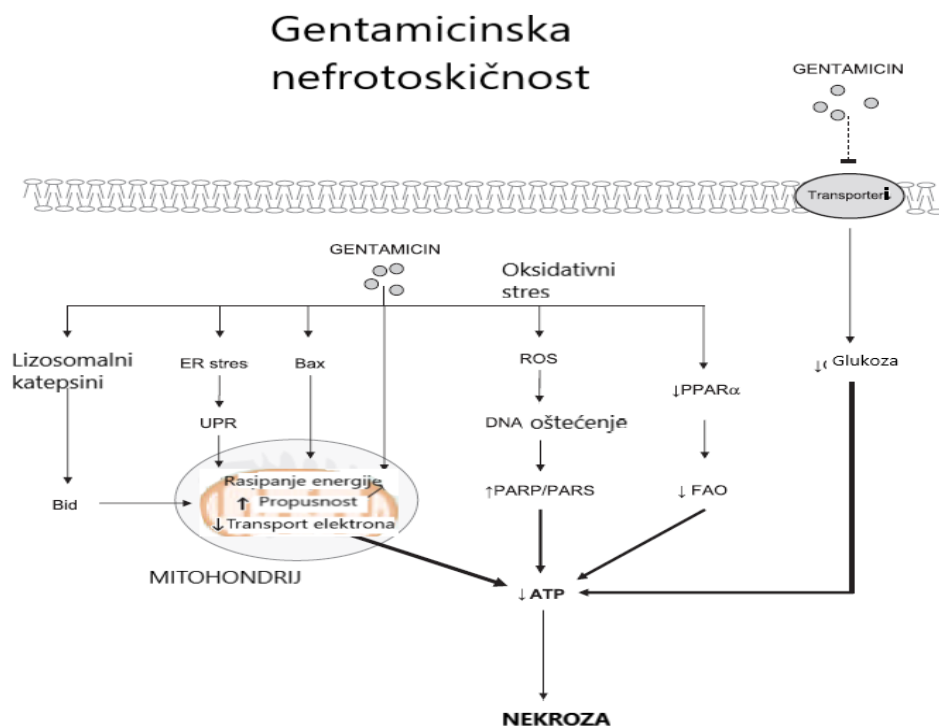


Slika 4: Mehanizam i stanični signalni put citotoksičnosti gentamicina [3]

Kako je za apoptozu potrebna energija, odnosno ATP, u slučajevima uznapredovale hipoksije i potrošnje ATP-a dominantan proces smrti stanice jest nekroza [3] na način da oslobođeni katepsini uzrokuju masivnu proteolizu [22]. Istraživanja su pokazala kako aktivacija PPAR- α održava proizvodnju ATP-a koji prevenira porast ROS i oksidativnog stresa te reducira apoptozu tijekom AOB uzrokovanog hipoksemijom i gentamicinom [24]. Posljedično nastala ishemija uzrokuje i endotelna oštećenja što dovodi do smanjenje ekspresije eNOS i produkcije prostaglandina i drugih vazodilatatora, što za posljedicu ima i smanjenje GMF. Uz to je povećana i proizvodnja endotelina te drugih vazokonstriktorskih faktora, što dodatno oštećuje funkciju tubula [1]. Oslobođanje vitalnih i odumrlih stanica u lumen tubula nastaju tubularni cilindri koji dodatno opstruiraju lumen i pogoršavaju tubularnu funkciju [2]. Intraluminalni cilindri kod AOB pretežno se sastoje od Tamm-Horsfallova proteina (THP), koji se proizvodi u uzlaznom dijelu Henleove petlje. THP se u obliku monomera izlučuje u tubularnu tekućinu te se potom polimerizira u prisutnosti povećane intraluminalne koncentracije Na^+ u distalnom dijelu nefrona tijekom AOB. THP polimerni gel predstavlja adekvatan medij za formiranje cilindra koji sadrže i apikalnu membranu stanica proksimalnih tubula [1]. Nastanak akutne tubularne nekroze uzrokovane aminoglikozidima, koju bi mogao prevenirati BPC 157 [27-49], aktivira upalnu kaskadu u tubularnim stanicama bubrega te dovode do povećane unutarstanične produkcije slobodnih radikala i redukcije antioksidacijskih mehanizama [23,26,42,46-47,51,53]. Istraživanja pokazuju da gentamicin dodatno inducira ekspresiju iNOS u glomerulima i mezangijskim stanicama [54,55].

Pretpostavlja se da stanična nekroza nastaje jednim od navedenih mehanizama ili udruženim djelovanjem svih navedenih [5,19,25,50]. Osim toga, zabilježeno je značajno povećanje bubrežne lipidne peroksidaze (LPO) i smanjenje aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD), katalaze (CAT), glutatation peroksidaze (GPx), glutation-S-transferaze (GST) te smanjenje vrijednosti glutationa (GT). Također su dokazana povećana aktivnosti inducibilne NO sintetaze (iNOS) i jezgrinog faktora NF- κ B [5,56,57]. Sve navedeno nedvojbeno dovodi u svezu aminoglikozidnu nefrotoksičnost s oksidacijskim stresom stanica. Klinički se aminoglikozidna nefrotoksičnost očituje neoliguričnim ili češće poliuričnim oblikom AOB s blagim porastom kreatinina u plazmi. Daljnjom primjenom aminoglikozida dolazi do napredovanja do oligurične i naposljetku anurične faze AOB. U prvoj fazi AOB, prije pojave azotemije, dolazi do pojave enzimurije s pojačanom ekskrecijom lizosomalnih enzima i β 2-mikroglobulina, a kasnije i proteinima veće molekularne težine što se može registrirati biokemijskim pretragama urina. Dolazi do smanjenja reapsorpcije kalija, magnezija i kalcija, te glukoze. Također dolazi do aktivacije renin – angiotenzin sustava što za posljedicu ima

lokalnu vazokonstrikciju koja naposljetku uzrokuje smanjenje glomerularne filtracije. Upravo će taj mehanizam za posljedicu imati povišenu koncentraciju kalija i kreatinina u krvi. Poliurija koja dominira u AOB uzrokovanom aminoglikozidima posljedica je inhibiranja učinka antidiuretskog hormona te se klinički manifestira slikom dijabetesa insipidusa [5,57,58].



Slika 5: Mehanizam citotoksičnosti gentamicina [3]

1.1.4. Oksidativni i nitrozativni stres i utjecaj na stanice

Dušikov oksid je plinoviti slobodni radikal koji ima funkciju u staničnoj signalizaciji, unutarstaničnoj energiji, upalnim kaskadama i staničnoj obrani. Osim toga, ključan je faktor u kontroli sistemske i intrarenalne hemodinamike, tubuloglomerularne povratne sprege uz kontrolu natriureze te tubularnog prijenosa vode i elektrolita [53]. NO nastaje aktivnošću tri izoforme dušikove sintetaze, neuronalnom NOS, endotelnom NOS i inducibilnom NOS, od kojih su sve prisutne u bubregu. eNOS je predominantno zastupljena u endotelnim stanicama,

dok se iNOS nalazi u glatkim mišićima i endotelu krvnih žila. Obje su zastupljene u početnom dijelu eferentne arteriole i glomerularnih kapilara, gdje NO ima važnu ulogu glomerularnog krvnog protoka. U mezangijskim stanicama predominantno je zastupljena iNOS [59], čija je produkcija NO inducirana citokinima i povezana s nitrozativnim stresom i/ili interakcijom sa superoksidnim anionom [60], a prekomjerna produkcija NO putem iNOS može uzrokovati oksidativni stres koji je povezan s hipertenzijom, AOB i IR ozljedom [61]. U malim koncentracijama eNOS generira NO proizvodnju koji aktivira gvanilat ciklazu na proizvodnju cGMP koji je uključen u vaskularnu homeostazu. eNOS proizvedeni NO inducira proizvodnju citoprotektivnih proteina [53] te ima važnu ulogu u ublažavanju vazokonstriktivnih supstanci poput endotelina koji se oslobađa u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti [54]. U visokim koncentracijama, aktivnost iNOS nadmašuje eNOS te tako proizvedeni NO sudjeluje u oštećivanju DNA i staničnoj apoptozi [53]. U takvim uvjetima NO i ROS mogu stvarati preoksidušične ione koji uzrokuju velika stanična oštećenja [62], što također može inducirati i hiperhomocisteinemija [63]. Stoga se aktivnost eNOS povezuje s oporavkom bubrežne funkcije nakon ozljede različitog tipa, posebno uz ključnu zaštitničku ulogu u IR ozljedi i uvjetovanom AOB [64], dok se aktivacija iNOS tijekom bubrežne ozljede povezuje s tubularnim oštećenjima u transplantiranih bubrega jer ishemija potiče obilno stvaranje iNOS [65]. Odnos eNOS i iNOS posebno je narušen u IR [59], te se pretpostavlja da iNOS uzrokuje eNOS inhibiciju [67] što je jedan od mogućih mehanizama iNOS citotoksičnosti stoga je za pretpostaviti kako inhibicija iNOS može imati koristan učinak [53]. Bubrežna aktivacija NOS izoformi i njihova ekspresija uzrokuje proizvodnju NO s dvojakim ulogama, ovisno o izoformi NOS koja ga je proizvela [62]. Istraživanja su pokazala kako selektivna iNOS inhibicija s L-NIL prevenira smanjenje glomerularne filtracije [53, 68], a time i bubrežno oštećenje, dok neselektivna inhibicija svih izoformi NOS s L-NAME ima štetne posljedice i pogoršava bubrežno oštećenje u AOB [26]. L-NAME u istodobnoj primjeni s gentamicinom uzrokuje pogoršanje parametara bubrežne funkcije snažnije nego gentamicin sam [26,53,55], dok jedan rad pokazuje poboljšanje bubrežne funkcije kod aminoglikozidne nefrotoksičnosti ako se L-NAME primjeni u pretretmanu uzrokuje [51]. Dosadašnja istraživanja pokazuju kako L-arginin uzrokuje poboljšanje parametara bubrežne funkcije u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti na način da bolja GMF smanjuje tubularnu nekrozu [26,53,55]. Međutim postoje istraživanja koja ne dovode u svezu bolju glomerularnu filtraciju s razinom tubularnog oštećenja, čime se ni učinak L-arginina ne može nužno smatrati protektivnim [92], a nedvojbeno su potrebna i dodatna istraživanja.

Istodobna primjena L-NAME i L-arginina nema značajnije razlike na parametre bubrežne funkcije u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti [26].

1.1.5. Upalne promjene u akutnom oštećenju bubrega

Tubularna nekroza u AOB dovodi i do aktivacije komplementa, pojačanog stvaranje citokina i kemokina unutar bubrega infiltraciju upalnim stanicama, što doprinosi pojačanoj ozljedi intersticija i tubularnih epitelnih stanica. Istraživanja su pokazala kako inhibicija upalnih mehanizama u ranom tijeku AOB može biti korisna, ali i štetna ako u kasnijoj fazi, regeneracije i oporavka što dodatno govori o kompleksnosti imunološkog zbivanja unutar bubrega u AOB. Stanični elementi koji nastaju nekrozom dodatno potiču kemotakciju upalnih stanica. Valja izdvojiti protein 1 visoko mobilne skupine (HMG-1protein) koji stimulira produkciju TNF- α i leukocitnu infiltraciju, zatim mitohondrijski proteini i proteini toplinskog šoka (Heat shock protein, HSP). Uslijed pada razine ATP-a aktivira se transkripcija HS faktora-1 i hipoksija-inducibilnog faktora-1, uz još uvijek nepoznatu specifičnu ulogu. Osim toga, tubularne epitelne stanice na hipoksiju odgovaraju i izravnim aktivnim stvaranjem citokina, adhezijskih molekula i dušikovog oksida [1]. Tijekom AOB aktivira se i sustav komplementa što dovodi do taloženja C3 komponente komplementa uz bazalne membrane tubula i povećane sistemske koncentracije C3a komponente komplementa. Aktivacija komplementa dodatno pokreće kaskadu upalnog odgovora. Epitelne stanice tubula imaju aktivnu ulogu u iniciranju upalnog odgovora povećanom ekspresijom upalnih čimbenika i receptora, poput toll like receptora TLR2 i TLR4. Signalizacija kroz TLR2 receptore i receptora za komponentu komplementa C3a izravno potiče epitelne stanice tubula na proizvodnju kemokina kao izravan odgovor na oksidativni stres [1]. Aktivirane epitelne stanice tubula, posebno proksimalnih tubula, proizvode adhezijske molekule za leukocite, različite kemokine i citokine. U teškim oblicima AOB s izraženom ishemijom i nekrozom stanica posebno dolazi do leukocitne infiltracije u tubulointersticijski prostor uz ekspresiju intercelularne prijanjajuće molekule 1 (ICAM-1), kemotaktičnog proteina-1 (MCP-1), IL-8, trombocitni-izvedeni faktor rasta [89]. U samu patogenezu AOB uključeni su aktivacija bubrežnih dendritičkih stanica (DC), infiltracija neutrofilima koji proizvode interferon- γ , makrofazi, CD4 + i CD8 + T stanice, B stanice, T-stanice prirodne ubojice (NKT). Upalni odgovor može biti posredovan prirođenim i stečenim imunološkim sustavom. Prirođeni imunološki sustav je aktiviran vrlo rano i zasniva se na neantigen-specifičnom modelu DC i NKT stanica. Leukociti, makrofazi i DC igraju ključnu ulogu u obje vrste imuniteta proizvodnjom proupalnih citokina i predstavljanja antigena na limfocitima [1]. Stečeni upalni odgovor može biti odgovoran i za dodatno kliničko pogoršanje, anuriju te posljedični mortalitet. Uz pojačanu ekspresiju ICAM-1,

pojačava se i ekspresija CX3CL1 za koji ligand posjeduju makrofazi zbog čega su same epitelne stanice tubula vrlo važne u ranom AOB [90]. Normalna uloga epitelnih stanica tubula je protuupalna u AOB te izražavaju Crry protein na bazolateralnoj membrani s glavnom funkcijom inhibicije komplementarne upalne kaskade. Nakon AOB Crry protein se zajedno s ranije opisanom redistribucijom proteina pomiče i tako dopušta taloženje C3 komponente komplementa na epitelnim stanicama tubula [1,90]. Limfociti predstavljaju glavni kasniji upalni odgovor, nazvan stečeni imunološki odgovor koji se aktivira naknadno senzibilizacijom nekrotičnim stanicama i uključuje DC sazrijevanje i prezentaciju antigena te proliferaciju i aktivaciju limfocita T s T staničnim receptorom specifičnim za prezentirani antigen. B stanice ne zahtijevaju prezentaciju antigena, već prepoznaju topljive antigene. Interakcija B i T limfocita potiče B stanice na stvaranje protutijela specifičnih za antigen [1]. S obzirom da T stanice reagiraju na nekrotične stanice i stanične dijelove koje prepoznaju kao antigen, a da je za aktivaciju B stanica dovoljno prisustvo unutarstaničnih dijelova možemo tvrditi da dolazi do razvoja snažnog imunološkog odgovora na epitelne stanice tubula bubrega. NKT stanice imaju sposobnost brze proizvodnje velike količine citokina, uključujući IFN- γ , TNF, IL-4, IL-13 u vrlo ranoj fazi upale čime se mogu dovesti u pojačavanje ili regulaciju funkcije DC, T stanica, NK stanica, B stanica, a time i veze rane i kasne imunološke reakcije. Ova saznanja mogu dovesti do novih ciljeva za razvoj klinički relevantne strategije liječenja kod AOB [1,90].

1.2. NO SUSTAV

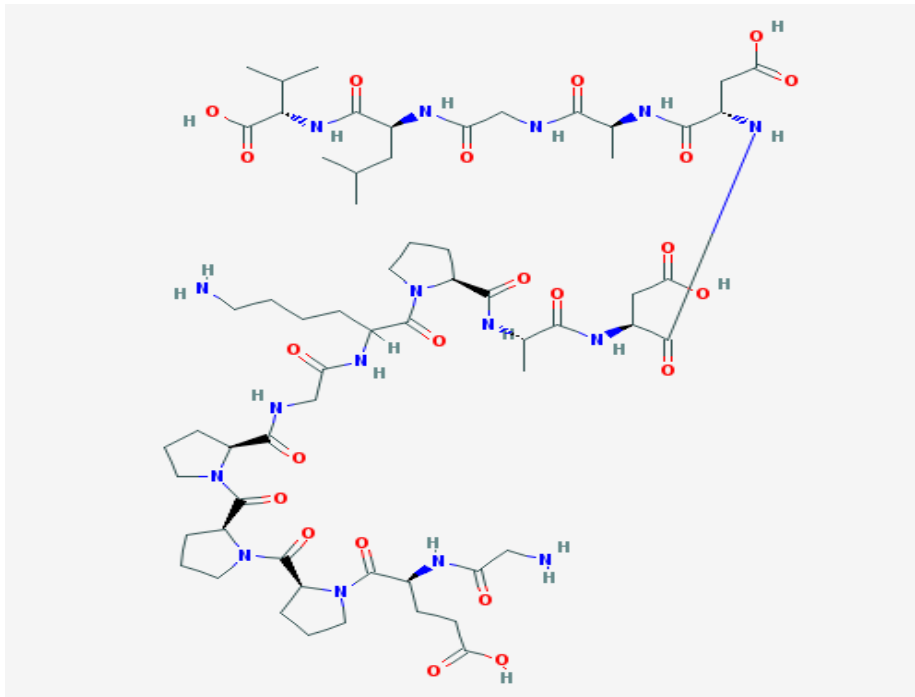
Dušični oksid ima važnu ulogu u regulaciji različitih staničnih funkcija u brojnim organskim sustavima, poput živčanog, imunološkog, kardiovaskularnog, urogenitalnog i gastrointestinalnog. Nastaje sintezom iz L-arginina kao prekursora u enzimu NO sintetazi [85]. U organizmu se nalaze tri izoforme ovog enzima, dvije konstitutivne NO sintetaze – neuronalna (nNOS) i endotelna (eNOS) i jedna inducibilna (iNOS). Neuronalna se uglavnom nalazi u neuronima, ali je u manjem dijelu prisutna u drugim organskim sustavima, poput bubrega [59]. Prvenstveno je odgovorna za plastičnost neurona, centralnu regulaciju krvnog tlaka i relaksaciju glatkih mišića. Endotelnu NOS nalazimo u endotelnim stanicama s ulogom vazodilatacije i regulacije krvnog tlaka te vazoprotektivnih i antisklerotičnih učinaka. Inducibilna NOS fiziološki se nalazi u upalnim stanicama, prvenstveno makrofazima, ali u

različitim patofiziološkim stanjima njenu ekspresiju mogu potaknuti bakterijski lipopolisaharidi, citokini, hipoksija ili aminoglikozidi, zbog čega je važan faktor u razvoju upalnog odgovora i patogenezi septičnog šoka. Njen je glavni produkt reaktivni NO koji ostvaruje fiziološki učinak na neželjene mikroorganizme, parazite ili tumorske stanice, ali se uz njegovu aktivnost vezuju i brojni učinci na zdrave stanice u sklopu upalnih i autoimunih reakcija u organizmu [85]. Osjetljiva ravnoteža proizvedenog NO važan je faktor u razvoju adekvatnog imunološkog odgovora organizma uz što manje neželjenih posljedica, jer jednako i manjak, kao i suvišak NO mogu dovesti do oštećenja tkiva [93].

1.3. PENTADEKAPEPTID BPC 157

1.3.1. Sastav i sinteza

Pentadekapeptid BPC 157 je aktivni dio stabilnog želučanog peptida BPC (engl. *Body Protection Compound*) koji je izdvojen iz želučanog soka 1991. godine s dokazanim antiulkusnim djelovanjem [29-31]. Pentadekapeptid BPC 157 sastoji se od 15 aminokiselina (Gly – Glu – Pro – Pro – Pro – Gly – Lys – Pro – Ala – Asp – Asp – Ala – Gly – Leu - Val), molekularne formule $C_{62}H_{98}N_{16}O_{22}$ i relativne molekulske mase (M_r) 1419 Da. Sinteza se provodi stupnjevitom kondenzacijom uz zaštitu fluoren-9-ilmetoksikarbinilom (Fmoc), a započinje valinom, vezanim uz polimerni nosač (benzildrilaminorezin). Kao vezujući reagens koristi se diizopropilkarodimid, a svakim stupnjem kondenzacije jedna protektivna Fmoc grupa zamjeni se piperidinom, pa se nadoveže jedna aminokiselina, a postupak se ponavlja za svaku sljedeću aminokiselinu dok se sinteza ne završi. Razdvajanje se obavlja trifluorooctenom, trifluorometansulfonskom kiselinom i anizolom u omjeru 2:17:52. Sirova mješavina pentadekapeptida pročisti se u HPLC stupcu 5 mm i.d., duljine 150 mm, silica RP-18, s gradijentom elucije u sustavu otapanja: 0.1 trifluorooctena kiselina u vodi/acetone nitrilu. U svim se pokusima koristio pentadekapeptid 99%-tne čistoće [96].



Slika 6: 2D struktura pentadekapeptida BPC 157 [29-31].

1.3.2. BPC 157 – osnovne spoznaje

Oskitocin je prvi kemijski sintetizirani peptid [97], a sinteza rekombinantnih peptida počela je 1974. godine, dok se rekombinantni humani inzulin pojavio 1982. godine [98]. U odnosu na rekombinantne proteine, peptidi su manje imunogeni, stabilniji su, uz veću specifičnost i bolju tkivnu distribuciju i raspoloživost [99-101] te kratkotrajnije nakupljanje zbog kratkog poluvijeka [99-101]. Najvažniji uvjeti za primjenu peptida kao lijeka su odgovarajući farmakokinetički profil i biološki učinak te niska imunogenost, što se postiže modifikacijom peptida s ciljem veće otpornosti na razgradnju i eliminaciju, uz bolju bioraspoloživost i selektivnost. Karakteristike peptida predstavljaju i veliki problem u eksperimentalnom radu zbog njihove nestabilnosti i potrebe za nosačem ili nosačima bez kojih ne mogu ostvariti aktivan učinak, a različite karakteristike samih nosača, kao i njihov potencijalan aktivan učinak predstavljaju dodatan problem u eksperimentalnim modelima.

Sve navedeno ograničava praktičnu i terapijsku primjenu peptida koja još nije dosegla svoj pretpostavljeni potencijal [48]. Studije su distribucije s poliklonskim protutijelima kunića dokazale da je osim u želucu, prisutan i u crijevima i mozgu, te predstavlja značajnu ulogu u mozak-crijevo osovini [106]. Za razliku od standardnih peptida koji potiču cijeljenje tkiva i djeluju antiulkusno za svoje djelovanje želučanostabilni BPC 157 ne treba biti primijenjen uz nosač [48,107,108]. 75-80% se izlučuje mokraćom i fecesom, a poluvrijeme eliminacije

egzogenog radionuklida BPC 157 je 80 sati nakon jednokratne peroralne i 77 sati nakon jednokratne parenteralne primjene [109-111]. Dugo poluvrijeme eliminacije govori u prilog njegovoj stabilnosti, ali i bioraspoloživosti, neovisno o načinu primjene. Standardni peptidi poput h-EGF i h-TGF su stabilni u vodi, ali se u želučanom soku razgrađuju već nakon 15 minuta, dok je BPC 157 stabilan i u vodi i u želučanom soku tijekom 24-satne inkubacije. Zbog svoje stabilnosti se može koristiti intragastrički ili peroralno, primijenjen u vodi za piće.

1.3.3. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na različita tkiva i organske sustave

Organoprotektivno djelovanje pokazano je na različitim organima u pokusima na životinjskim modelima [48]. Farmakodinamske studije nisu pokazale afinitet BPC 157 za histaminske, serotoninске (5-HT₁, 5-HT₂), adrenergičke (α , β), dopaminske, muskarinske (M₁, M₂ i M₃) i adenozijske (A₁ i A₂) receptore [112], a nije ni inducirao aktivnost mikrosomalnih enzima citokroma P-448 i P-450 jetre miša [113]. Novija istraživanja dokazuju kako BPC 157 te pokazuje osobine medijatora u Robertovom konceptu citoprotekcije u probavnom sustavu [114] koja podrazumijeva zaštitnu ulogu prostaglandina u očuvanju sluznice neovisno o želučanoj kiselini [70]. Adaptivna citoprotekcija predstavlja mehanizam u kojem ranija primjena blažeg iritansa štiti želučanu sluznicu od agresivnijih iritansa [70]. Istraživanja su pokazala da BPC 157 štiti sluznicu želuca nakon akutne i kronične indukcije alkoholnih lezija i nesteroidnih protuupalnih lijekova [43, 115], a dodatno pojačava i protok krvi na margini ulkusa i njegovo cijeljenje, bez utjecaja na sekreciju želučane kiseline [116,117]. Navedeni mehanizam citoprotekcije dokazan na želučanoj sluznici može se generalno primijeniti u čitavom organizmu [87]. BPC 157 ima zaštitno djelovanje i utjecaj na prevenciju razvoja i poticanje cijeljenja ulkusa želuca [125,126] i duodenalne lezije [29], ulceroznog kolitisa [127], ozljede mišića [128] te cijeljenje ligamenata [79,129] i oštećenog živca [130], akutnog pankreatitisa [30], te da potiče stvaranje granulacijskog tkiva i angiogeneze uz protekciju endotela [40,131] i cijeljenje anastomoza krvnih žila [122] te da ublažava lezije različitih organskih sustava kod toksičnih doza nesteroidnih antireumatika i agresivnih sredstava [30, 118-120]. Potpuna sigurnost primjene ovog antiulkusnog peptida potvrđena je u kliničkim studijama za upalnu bolest crijeva i cijeljenje rana, jer prilikom istraživanja nisu zapaženi nikakvi toksični učinci, čak niti u

izrazito visokim dozama od 100mg/kg tjelesne težine [28]. Kronična primjena peptida djeluje protuupalno u induciranom parodontitisu kod štakora [132].

1.3.4. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na urinarni sustav

Sučić u doktorskoj disertaciji dokazuje kako primjena BPC 157 u bilo kojoj dozi i neovisno o načinu promjene dovodi do smanjenja makroskopskih i patohistoloških lezija mokraćnog mjehura u ciklofosamidom induciranom hemoragijskom cistitisu [136]. Sučić je također dokazao kako L-NAME dovodi do pogoršanja lezija i anulira protektivan učinak L-arginina na ciklofosamidom inducirani hemoragijski cistitis, ali i smanjenje lezija nakon istodobne primjene BPC 157 i L-NAME [136]. Ćorić – Martinović je u svojoj doktorskoj disertaciji dokazala kako BPC 157 sprječava i/ili popravlja nefrotski sindrom izazvan epirubicinom u animalnom modelu na štakorima i miševima. U BPC 157 tretiranih životinja zabilježena je statistički značajno manja proteinurija i niže vrijednosti kolesterola i triglicerida, dok patohistološki nisu zabilježene patološke promjene tubula bubrega [135]. U svojoj je doktorskoj disertaciji Filipović dokazao protektivan učinak BPC 157 u ishemijsko reperfuzijskom oštećenju bubrega. Ishemijsko reperfuzijsko oštećenje bubrega dovodi do teških promjena na bubregu s posljedičnim učincima i na druge organske, a posljedica su prvenstveno porasta upalnih medijatora i slobodnih radikala kisika i njihovog sistemskog djelovanja. BPC 157 je smanjio oštećenje tubula i reducirao intersticijske promjene. Pozitivan učinak BPC 157 je ostvario i tijekom ishemijske i tijekom reperfuzije kao i na kolateralni neozljeđeni bubreg zbog čega možemo pretpostaviti da djeluje na više različitih mehanizama uključenih u ishemijsko reperfuzijsko oštećenje bubrega. Pretpostavljeno je kako tijekom ishemijske dolazi do razaranja citoskeleta i adhezijskih molekula zbog potrošnje ATP-a, a tijekom reperfuzije zbog oštećenja slobodnim radikalima kisika i dušika te burnog upalnog odgovora. BPC 157 vjerojatno pozitivan učinak ostvaruje očuvanjem citoskeleta preko uključenosti u FAK paksilinski put uz stabilizaciju endotela što Filipović dokazuje pojačanim intersticijskim edemom u kontrolne skupine životinja. Filipović je također dokazao i pojačanu otpornost stanice na slobodne radikale kisika, a pokusom nije dokazana proliferacijsku sposobnost stanica.

1.3.5. Utjecaj pentadekapeptida BPC 157 na elektrolitski status i srčane aritmije

Dosadašnja istraživanja su dokazala kardioprotektivan i antiaritmički učinak pentadekapeptida BPC 157 u više modela [28-35,37,40-43,49,79,87]. BPC 157 smanjio je pojavu totalnog AV bloka, ventrikularne tahikardije i fibrilacije ventrikla u hipersaturaciji digitalisom [121]. BPC 157 je reducirao pojavu i trajanje ventrikulske fibrilacije i atrioventrikulske disocijacije kod ishemijsko-reperfuzijske ozljede modelu izoliranog srca zamorca [123] te je reducirao trajanje aritmija generiranih ishemijsko reperfuzijskom ozljedom u izoliranom srcu svinje [27]. Dokazano je da su štakori tretirani BPC 157 normokalemični i bez aritmija nakon davanja suksinilkolina koji nakon intramuskularne aplikacije uzrokuje hiperkalemiju praćenu različitim aritmijama (šiljasti T valovi, produženje QRS kompleksa i PR perioda te intermitentni AV blok i asistoliske pauze) [124]. BPC 157 je pokazao život spašavajući efekt kod aplikacije mortalnih doza KCLa u štakora na način da razvojna kaskada šiljati T val – nestajanje P vala – širenje QRS kompleksa – bradikardija – asistolija nije zabilježena u BPC 157 tretiranih životinja [85].

Antiaritmički učinak BPC 157 dokazan je i u modelu hiperkalijemijskih i hipokalijemijskih aritmija nakon aplikacije visoke doze KCl odnosno indukcije visokih doza furosemda i doveo do prevencije tipičnih elektrokardiografskih promjena i aritmija induciranih hiperkalijemijom odnosno hipokalijemijom. Navedeno je potvrđeno elektrofiziološkim ispitivanjem patch clamp tehnikom na HEK293 stanicama gdje je pokazano smanjenje depolarizacijskog učinka otopine KCl primjenom pentadekapeptida BPC 157 [85,87,121].

1.3.6. Odnos pentadekapeptida BPC 157 i NO sustava

Brojna recentna istraživanja promatrala su odnos BPC 157 i NO sustava, interakciju s NO-prekursorima, NOS-blokatorim i učinkom na njihovu kombinaciju. U brojnim se člancima pokazalo da u različitim vrstama tkiva i životinjskih modela BPC 157 utječe na otpuštanje NO-a i može poništiti učinak i NOS-blokatora L-NAME i NO-prekursora L-arginina. Ova posebna interakcija BPC-a 157 i NO sustava može objasniti široki raspon različitih pozitivnih učinaka pentadekapeptida BPC 157 [29,31,43,114]. Dosadašnja iskustva u *in vivo* i u *in vitro* pokusima pokazuju kako BPC 157 može nadvladati učinak L-NAME, kompetitivnog inhibitora endotelnog NO-a. Navedeno se može objasniti činjenicom da L-NAME inhibira endotelnu NO sintetazu (eNOS) u kompeticiji s L-argininom te je jednako tako moguća

kompeticija i s BPC-om 157. Iako kod samostalne primjene oba iniciraju sintezu NO-a, stvaranje NO bilo je smanjeno u kombinaciji pentadekapeptida BPC 157 i L-arginina. BPC-a 157 dodatno inhibira aktivnost eNOS kada je L-arginin primjenjen s L-NAME [31]. Sposobnost pentadekapeptida BPC 157 u induciranju sinteze NO-a nije bila inhibirana dodatkom L-NAME u čak pet ili deset puta većoj dozi od one potrebne za zaustavljanje učinka L-arginina što govori u prilog kako BPC 157 ipak ima drukčiji učinak na NO od učinka L-arginina što je dokazano na modelu supernatanta homogenata sluznice želuca štakora gdje BPC 157 ima učinak na stvaranje NO na izraženiji i/ili različit način u odnosu na L-arginin [31]. Simultana primjena L-arginina i BPC 157 u ascitesu ili plućnoj hipertenziji iduciranim kroničnom promjenom L-NAME na animalnom modelu pilića [44]. Na istom modelu primjećeno je kako je L-NAME uzrokovao teška oštećenja različitih tkiva (jetra, slezena, miokard) dok je L-arginin predominantno uzrokovao kongestiju, edem i hemoragiju u različitim organima te da je istodobna primjena L-NAME i L-arginina s BPC 157 antagonizirao učinke L-NAME, dok BPC 157 primjenjen sam nije uzrokovao nikakvo oštećenje tkiva ili organa. Recentno je Sikirić sumirao spoznaje o interakciji BPC-a 157 i NO sustava gdje je dodatno naglasio sudjelovanje pentadekapeptida BPC 157 u Moncadinom homeostatskom odgovoru cijeljenja preko NO sustava [70,87]. BPC 157 nedvojbeno posjeduje antioksidativna svojstva jer antagonizira jetrena i moždana oštećenja izazvana slobodnim radikalima (CCl₄, paracetamol, diklofenak) [118-120]. U mehanizmu cijeljenja BPC 157 potiče ekspresiju erg-1 gena i njegovog produkta represorskog faktora rasta živaca 1-A vezujućeg proteina -2 (nab2) u nediferenciranim Caco-2 stanicama što inducira proizvodnje citokina i faktora rasta i ranu tvorbu vanstaničnog matriksa. Pretpostavlja se kako je utjecaj BPC 157 na ekspresiju gena erg-1, potentnog transkripcijskog aktivatora različitih trombotičkih i inflamatornih kaskada, može prekinuti djelovanje proinflamatornih i protrombotičkih medijatora [33,87] i na taj način ostvariti dodatni protektivni učinak u zaštiti stanica tubula od aminoglikozidne akutne tubularne nekroze. U ranije opisanom modelu intoksikacije digitalisom, učinak BPC 157 bio je izražen kod blokade aktivnosti NO sustava nespecifičnim inhibitorom NO sintetaze (L-NAME) dok istodobna primjena L-arginina nije uzrokovala sinergiju s učinkom pentadekapeptida BPC 157 [121]. Antiaritmijski učinak BPC 157 također ostvaruje u hiper odnosno hipokalijemiji putem modulacije aktivnosti NO sustava na način da antagonizira proaritmijski učinak L-NAME dok je sinergijski učinak izostao istodobnom primjenom s L-argininom. BPC 157 djeluje protektivno na endotel [44,94] modulirajući NO sustav, što je dokazano u redukciji nastanka i smanjenjem veličine tromba nakon uspostave aortne anastomoze u štakora [122].

2. HIPOTEZA

Temeljem ranije spomenutih učinaka pentadekapeptida BPC 157 i njegovu interakciju s NO sustavom hipoteza ovog istraživanja je kako BPC 157 djeluje nefroprotektivno u gentamicinom izazvanoj nefrotoksičnosti.

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći cilj

Spriječiti ili ublažiti razvoj aminoglikozidne nefrotoksičnosti izazvane gentamicinom na štakorskom modelu, primjenom pentadekapeptida BPC 157.

3.2. Specifični ciljevi

- smanjiti ili zaustaviti tubularnu nekrozu primjenom pentadekapeptida BPC 157
- održati glomerularnu filtraciju i zadovoljavajuću bubrežnu funkciju primjenom pentadekapeptida BPC 157
- Istražiti je li učinak pentadekapeptida BPC 157 posredovan NO-sustavom

4. MATERIJALI I METODE

4.1. Životinje

U istraživanju su korišteni muški Wistar albino štakori, tjelesne težine 180-300 grama i dobi 14-18 tjedana, iz uzgoja Zavoda za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Štakori su bili smješteni u metaboličke kaveze sa slobodnim pristupom vodi i hrani u kontroliranim laboratorijskim uvjetima temperature i vlažnosti zraka [57], te 12-satnim ciklusom svjetla i tame, u svakom kavezu po jedan štakor. Za svaku eksperimentalnu grupu upotrebjeno je nasumično odabranih 10 štakora, odnosno ukupno 170 inicijalno uključenih životinja. Smrtno stradale životinje prije planiranog žrtvovanja nadomještene su novim životinjama, ukupno njih 24. Istraživanje se provodilo pod laboratorijskim uvjetima i pravilima Zavoda, a u skladu s dobrom laboratorijskom praksom. Sa životinjama se postupalo sukladno Zakonu o zaštiti životinja (NN 135/06) i Pravilniku o zaštiti životinja koje se koriste u pokusima ili u druge znanstvene svrhe (NN 47/11). Eksperimentalne životinje držane su u kontroliranim klimatskim uvjetima (temperatura 22-24°C, vlažnost 30-60%), u uvjetima prirodnih ciklusa svjetla i mraka, uz slobodan pristup paletiranoj hrani i vodi, a njihova aktivnost bila je po volji. Prije početka istraživanja dobiveno je odobrenje Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.2. Agensi

U istraživanju je za izazivanje akutne tubularne nekroze korišten Gentamicin (gentamicin Belupo). Korišten je pentadekapeptid BPC 157 (GEPPPGKPADDAGLV, M.W. 1419), (Diagen, Ljubljana, Republika Slovenija), otopljen u fiziološkoj otopini prema ranije etabliranim protokolima [1,27-49,94]. Pentadekapeptid BPC 157 je dio sekvence proteina BPC iz ljudskog želučanog soka te je u potpunosti topiv u vodi pri PH 7.0 i fiziološkoj otopini. Pripremljen je kako je ranije što je prije opisano 99% čistoćom pomoću visokotlačne kromatografije (HPLC), uz 1-des-Gly peptid kao nečistoćom [96]. Korišteni su također L-NAME (Sigma, St. Louis, MO, USA) i L-arginin (Sigma, St. Louis, MO, USA) i 0.9% otopina natrijeva-klorida (0.9% NaCl, otopina za infuziju, B.Braun, Berlin, Njemačka) sukladno ranije etabliranim protokolima [1,27-49,94]. Svi agensi davani intraperitonealno, aplicirani su u donju desnu regiju abdomena, iznad mokraćne cijevi kako bi se izbjegla lezija

mokraćnog mjehura, a tijekom aplikacije nije zabilježeno povreda vaskularnih niti unutarnjih organa štakora. Pristup peroralnom lijeku bio je po volji u pitkoj vodi čime je izbjegnuto dodatni stres za životinje poput gavaže.

4.3. Eksperimentalni protokol

Inicijalno je u istraživanje uključeno 170 životinja, 10 životinja po skupini u ukupno 17 skupina, s tim da su smrtno stradale životinje prije planiranog žrtvovanja nadomještene novim životinjama, ukupno njih 24. Ispitivana je jedna doza gentamicina 100mg/kg tjelesne težine [57], aplicirana intraperitonealno jednom dnevno. Visoke doze gentamicina nužne su radi brzog postizanja kortikalne nekroze i akutnog oštećenja bubrežnog [5,15,52,57,134]. Doze pentadekapeptida BPC 157 su 10 µg/kg i 10 ng/kg primjenjene parenteralno. Zbog potencijalnog objašnjenja mehanizma djelovanja pentadekapeptida BPC 157 putem NO sustava u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti doza BPC 157 od 10µg/kg odnosno 10ng/kg. Terapijske skupine koje su BPC 157 dobivale peroralno, dobile su odgovarajuću količinu BPC 157 u vodi koju slobodno piju (0,16 µg/ml, 12ml/dan; 0,16 ng/ml, 12ml/dan) kao jedinka u metaboličkom kavezu. BPC 157 će se kombinirati s L-NAME (5mg/kg) i L-argininom (200mg/kg) te njihovom kombinacijom. L-NAME, L-arginin i kombinacija (L-NAME/L-arginin) u ranije navedenim dozama su se aplicirale s i bez pentadekapeptida BPC 157 u gentamicinom induciranoj nefrotoksičnosti. U svim terapijskim skupinama aplikacija BPC 157 bila je nakon intraperitonealne aplikacije gentamicina [1,27-32,34-38,40,41,43-45,48,94]. Tablično prikazano navedene skupine životinja su slijedeće:

Terapijska skupina	Supstancije koje se apliciraju po skupini	Broj životinja
Gentamicin skupina 1	Gentamicin 100mg/kg u 2 ml FO ip	10
Gentamicin skupina 2	Gentamicin 100 mg/kg + čista voda za piće (po volji)	10
Terapijska skupina 1	BPC 157 ip (10µg/kg) + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 2	BPC 157 (10ng/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10

Terapijska skupina 3	BPC 157 (10µg/kg) ip + L-NAME (5mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 4	BPC 157 (10ng/kg) ip + L-NAME (5mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 5	BPC 157 (10µg/kg) ip + L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 6	BPC 157 (10ng/kg) ip + L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 7	BPC 157 (10µg/ng) ip + kombinacija L-NAME (5mg/kg) ip/L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 8	BPC 157 (10ng/kg) ip + kombinacija L-NAME (5mg/kg) ip/L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 9	L-NAME (5mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 10	L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 11	L-NAME (5mg/kg) ip/L-arginin (200mg/kg) ip + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 12	BPC 157 per os (10µg/kg/ml) + gentamicin (100mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 13	BPC 157 per os (10µg/kg/ml) + gentamicin (100mg/kg) ip	10

	+ L-NAME (5mg/kg) ip	
Terapijska skupina 14	BPC 157 per os (10µg/kg/ml) + gentamicin (100mg/kg) ip + L-arginin (200mg/kg) ip	10
Terapijska skupina 15	BPC 157 per os (10µg/kg/ml) + gentamicin (100mg/kg) ip + kombinacija L-NAME (5mg/kg) ip / L-arginin (200mg/kg) ip	10

Tablica 1: Tablično prikazane skupine životinja uključenih u pokus.

4.4. Vrednovanje učinka

Svaka životinja iz svake skupine je ocjenjivana. Promatran je klinički izgled životinja, snimani su elektrokardiogrami, mjerena je težina životinje i dnevna diureza, biokemijska analiza krvi te patomorfološka i patohistološka analiza bubrega. Kako bismo validirali dobivene rezultate naposljetku je učinjena i statistička analiza svih rezultata.

4.4.1. Klinički izgled životinja

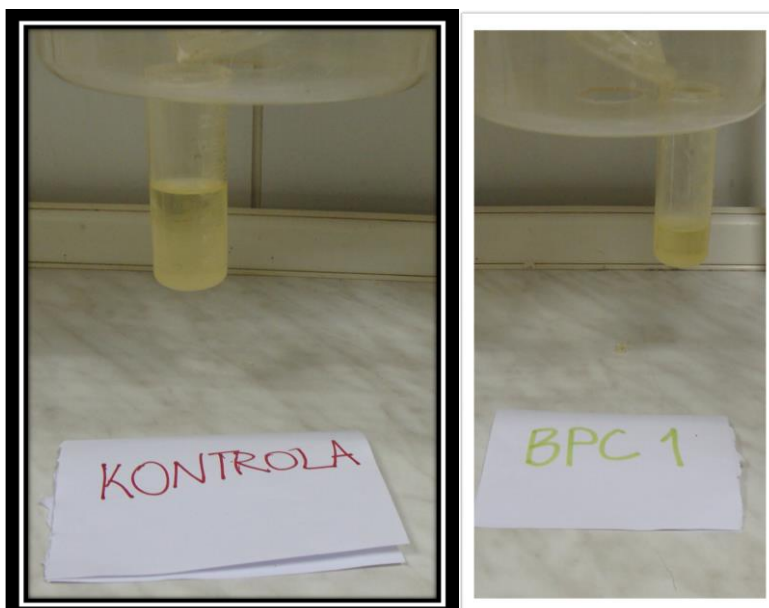
Tijekom istraživanja svakodnevno je praćena aktivnost i izgled životinja što je dokumentirano slikanjem životinja iz svih terapijskih skupina. Praćeni su klinički parametri kao što su boja njuške i sluznica te periferni edemi što su dva neovisna promatrača procjenjivali bodovanjem od 1 do 3. S tim da je broj 1 odgovarao najmanje izraženim patološkim promjenama, a broj 3 označavao najviše izražene promjene. Procjenjivanje su izvodile dvije neovisne osobe koje ne sudjeluju na radu te nisu bile upoznate o kojoj se skupini životinja radi, a kao konačni rezultat uzimana je srednja vrijednost [87]. Smrtnost je izražena brojem umrlih životinja u svakoj terapijskoj skupini [87].



Slika 7: Klinički izgled životinje. Lijevo prikazuje životinju tretiranu BPC 157 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne težine intraperitonealno, a desno životinju tretiranu fiziološkom otopinom intraperitonealno neposredno pred žrtvovanje u životinjskom modelu AOB uzrokovanog gentamicinom.

4.4.2. Dnevna diureza

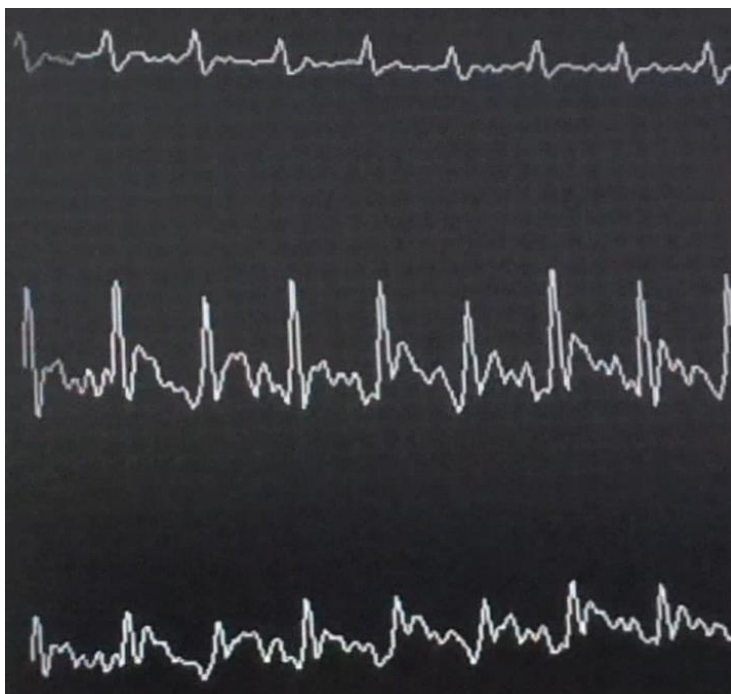
Životinje su svakodnevno vagane na električnoj vagi, na način da se neuspavana životinja stavi na vagu i pričekava da se smiri na vagi. Potom se očita težina životinje izražena u gramima, zaokružena na cijeli broj. Dnevna diureza određivana je svakodnevним skupljanjem urina tijekom boravka štakora u metaboličkom kavezu, izražena u mililitrima, zaokružena na cijeli broj.



Slika 8: Dnevna diureza. Desno je prikazana diureza četvrtog dana životinje tretirane BPC 157 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tjelesne težine intraperitonealno, a lijevo diureza četvrtog dana životinje tretirane fiziološkom otopinom intraperitonealno u životinjskom modelu AOB uzrokovanog gentamicinom. Primjećujemo svjetliju boju i poliuričnu fazu u kontrolne životinje.

4.4.3. Elektrokardiogram

Životinjama je svakodnevno sniman elektrokardiogram koji se analizirao, a eventualne promjene elektrokardiograma su se dovodile u vezu s promjenama u elektrolitskom statusu. Svi elektrokardiografski zapisi su načinjeni na trokanalnom uređaju (tri standardna odvoda ekstremiteta) brzinom 50mm/s, EKG monitor 2090 Medtronic (Minneapolis, MN, USA). Aparat je baždaren na visinu potencijala 1mV/cm. Prilikom snimanja elektrokardiograma životinje nisu bile anestezirane kako ne bismo utjecali na prirodu pokusa te kako bih spriječio dodatnu smrtnost zbog utjecaja na respiraciju kod životinja s razvijenim AOB.



Slika 9: Trokanalni elektrokardiogram budne životinje.

4.4.4. Biokemijska analiza

Nakon osam dana štakori su bili uspavani ketaminom u dozi od 100 mg/kg tjelesne težine, potom je uspavanoj životinji učinjena laparotomija, a zatim venepunkcijom iz šuplje vene izvađena krv. Potom je životinja žrtvovana dvostruko većom dozom anestetika. Iz seruma su određene vrijednosti serumskog kreatinina, ureje, natrija, kalija, kalcija i magnezija [72,73,80]. Mjerenje je provedeno na automatiziranom uređaju za biokemijsku analizu krvi Olympus AU2700 (Olympus Diagnostica GmbH, Lismeehan, Ireland). Testovi su rađeni s originalnim rutinskim test reagensima u kliničkom laboratoriju KB Dubrava.

4.4.5. Makroskopska analiza

Nakon što su se životinje u cijelosti umirile učinjena je uzdužna incizija kože trbušne stijenke, a potom i mišićnog sloja medijalno u dužini oko 5 cm, suprapubično prema ksifoidnom nastavku [1]. Potom je učinjena venepunkcija iz donje šuplje vene i izvađena krv. Potom je životinja žrtvovana dvostruko većom dozom anestetika. Nakon čega pristupamo retroperitonealno i oba bubrega, precizno anatomskom pincetom i škarama, odvajamo od okolnog retroperitonealnog i masnog tkiva [1]. Fotodokumentirali smo bubrege te odredili relativnu masu bubrega [58]. Neposredno prije žrtvovanja također smo odredili masu životinje, a poslije žrtvovanja i srednju masu bubrega. Srednja masa bubrega izračun je zbroja mase oba bubrega dijeljenog s 2 koji se podijeli s masom životinje [58,87].



Slika 10: Makroskopski izgled bubrega. Desno prikazuje bubreg životinje tretirane BPC 157 10 µg/kg tjelesne težine intraperitonealno, a lijevo bubreg životinje tretirane fiziološkom otopinom intraperitonealno neposredno nakon žrtvovanja i preparacije bubrega u životinjskom modelu AOB uzrokovanog gentamicinom.

4.4.6. Patohistološka analiza

Po učinjenim mjerenjima bubrege smo fiksirali u puferiranoj 10% otopini formalina (pH 7.4) na 24 sata, dehidrirali i zalili parafinskim voskom u blokove. Nakon rezanja uzorci su bojani eozinom i hematoksilinom. Patolog je analizirao tri različita uzorka debljine 5µm iz oba bubrega. Na svakom uzorku procjenjivana je težina i veličina akutne tubularne nekroze [1,88]. Patolog koji je analizirao uzorke nije bio upoznat s vrstom uzorka obzirom na terapijske skupine životinja. Promjene u svakom pojedinom uzorku bodovane su od 0 do 4. Uredan nalaz bodovan je s „0“ (nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni). Blage promjene bodovane su s „1“ (blaga tubularna nekroza 5-25% tubula u vidnom polju ima promjene). Umjerene promjene bodovane su s „2“ (25-50% tubula u vidnom polju ima promjene). Teške promjene bodovane su s „3“ (značajna tubularna nekroza s edemom intersticija, perivaskularnim edemom i infiltratima upalnih stanica, 50-75% tubula u vidnom polju ima promjene), a izrazito teške promjene s „4“ (gotovo svi tubuli u vidnom polju imaju promjene) [91,133].

4.5. Statistička analiza

Za statističku analizu koristili smo STATISTICA 13 (Dell Software, USA). Za normalnu distribuciju koristili smo one-way ANOVA test s adekvatnim post hoc testom, za nenormalnu distribuciju podataka koristili smo Kruskal-Wallis test s adekvatnim post hoc testom. Chi kvadrat test, odnosno Fischer exact test koristili smo za usporedbu frekvencijske razlike među grupama. Analiza varijance ANOVA korištena je za statističku analizu kvantitativnih podataka. Dobiveni podatci su prezentirani kao srednja vrijednost +/- standardna devijacija (SD), a vrijednost $p < 0.01$ smatrana je statistički signifikantnom [87].

5. REZULTATI

Ukupni broj životinja uključen u istraživanje iznosio je 170. Donja tablica prikazuje skupine i broj životinja. Kratice skupina dane su ranije u ovom dokumentu.

Tablica 2 Skupine životinja promatrane u istraživanju	
Skupina	N
G(ip) Arg(ip)	10
G(ip) Arg(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC ng(ip)	10
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	10
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC ng(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC μ g (ip)	10
G(ip) BPC μ g (ip) Arg(ip)	10
G(ip) BPC μ g (ip) Arg(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC μ g(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC μ g(po)	10
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	10
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) L-NAME	10
G(ip) BPC μ g(po) L-NAME	10
G(ip) L-NAME	10
K1 G(ip)	10
K2 GFO(ip)	10

Tablica 2: Skupine životinja promatrane u istraživanju.

Osim prema originalnim skupinama, kako je izloženo na početku poglavlja Rezultati, promatrane životinje moguće je grupirati i prema alternativnim kriterijima. Na ovaj način smanjuje se broj promatranih skupina čime se pojednostavnjuje analiza rezultata a prikazani podaci su pregledniji. Sukladno ranijim istraživanjima u kojima BPC 157 ne pokazuje razlike djelovanja u odnosu na primjenjenu dozu (μg i ng) i načine aplikacije (peroralno ili intraperitonealno)

Tablica 3 Skupine životinja promatrane u istraživanju	
Skupina	N
BPC	30
BPC+Arg	30
BPC+LNAME	30
BPC+Arg+LNAME	30
Arg	10
L-NAME	10
Arg+LNAME	10
K	20

Tablica 3: Alternativno grupirane skupine životinja promatrane u istraživanju.

5.1. Klinički izgled životinja

Eksperimentalne životinje tretirane samo gentamicinom prezentirale su se lošijim ocjenama kliničkih parametara praćenim perifernim edemima (njuška, lice, šape, skrotalna regija), adinamijom i stršećom dlakom. Primjena L-arginina i L-NAME, pojedinačno ili zajednički također je uzrokovala lošiju kliničku prezentaciju, bez statistički značajnih razlika između samih skupina u kojima nije primjenjen BPC 157. Primjena BPC 157 u svim kombinacijama, neovisno o dozi i načinu primjene pokazuje statistički značajniji bolji klinički izgled životinja. Smrtnost je izražena brojem umrlih životinja u svakoj terapijskoj skupini i veća je u skupina koje nisu tretirane BPC 157.

Tablica 4 Klinički izgled			
	1	2	3
G(ip) Arg(ip)	0	2	8
G(ip) Arg(ip) LNAME	0	0	10
G(ip) BPC ng(ip)	9	1	0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	6	0	4
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	0	9	1
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	10	0	0
G(ip) BPC μ g(ip)	10	0	0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	9	1	0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	6	4	0
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	6	4	0
G(ip) BPC μ g(po)	10	0	0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	10	0	0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	7	2	1
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	6	2	2
G(ip) LNAME	0	2	8
K1 G(ip)	1	1	8
K2 GFO(ip)	1	0	9

Tablica 4: *Klinički izgled životinja.* Tablica prikazuje tri stupca koji predstavljaju ocjene kliničkog izgleda koje su dva neovisna promatrača procjenjivali bodovanjem od 1 do 3. S tim da je broj 1 odgovarao najmanje izraženim patološkim promjenama, a broj 3 označavao najviše izražene promjene. Retke predstavlja broj životinja u skupini klasificirane po ocjeni.

Tablica 1 Klinički izgled			
	1	2	3
BPC	29	1	0
BPC+Arg	25	1	4
BPC+LNAME	22	6	2
BPC+Arg+LNAME	13	15	2
Arg	0	2	8
LNAME	0	2	8
Arg+LNAME	0	0	10
K	2	1	17

Tablica 5: Alternativno grupirane skupine za klinički izgled životinja. Ostalo objašnjenje kao u Tablici 4.

Tablica 6 Uginule životinje	
Skupina	N
G(ip)	6
GFO(ip)	3
G(ip) BPC µg(ip)	0
G(ip) BPC ng(ip)	0
G(ip) BPC µg(ip) LNAME	1
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	0
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip)	0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	0
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME	1
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	1
G(ip) LNAME	5
G(ip) Arg(ip)	3

G(ip) Arg(ip) LNAME	4
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$	0
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ LNAME	0
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ Arg(ip)	0
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ Arg(ip) LNAME	0

Tablica 6: *Uginule životinje.* Smrtnost je izražena brojem umrlih životinja u svakoj terapijskoj skupini. Tablica prikazuje ukupan broj uginulih životinja tijekom trajanja istraživanja, prema skupinama.

5.2. Dnevna diureza

Dnevna diureza se određivala svakodnevno, skupljanjem dnevnog urina tijekom boravka štakora u metaboličkom kavezu te je izražena u mililitrima, zaokružena na cijeli broj. Eksperimentalne životinje tretirane gentamicinom prezentirale su se poliuričnom fazom koja se javljala 72. sat pokusa, da bi potom ulazile u oliguričnu do anuričnu fazu AOB. Primjena L-arginina i L-NAME, pojedinačno ili zajednički također je uzrokovala gore opisanu distribuciju diureze, bez statistički značajnih razlika između samih skupina u kojima nije primjenjen BPC 157. Primjena BPC 157 u svim kombinacijama, neovisno o dozi i načinu primjene nije pokazala oligurične ni anurične faze diureze, dok je eventualna poliurična faza nastupala zadnji dan pokusa. Tablice i grafikon koji slijede prikazuju dnevne vrijednosti diureze u promatranim skupinama životinja.

Tablica 7 Diureza u periodu 24h-168h

Skupina	0h					24h					48h				
	M*	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	14,10	1,73	12	14,50	16	15,20	2,10	14	14	17	15,10	4,41	14	14,50	15
G(ip) Arg(ip) LNAME	9,50	1,18	8	10	10	12,70	2	12	14	14	14,60	5,60	12	14	14
G(ip) BPC ng(ip)	10,50	2,27	10	10,50	12	11,60	1,84	10	11	14	11,90	2,60	12	12	13
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	13,10	1,10	12	13	14	13,20	1,40	12	13,50	14	17,60	4,53	14	16,50	20
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	14,70	2	14	14	16	15,20	1,62	14	16	16	14,70	2,41	12	14	17
G(ip) BPC ng(ip) LNAME						13,60	1,51	12	14	14	19,30	2,95	16	20	20
G(ip) BPC µg(ip)	11,70	2,75	10	12	14	12,90	2,88	10	14	15	13,50	3,10	12	14	16
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip)	12,30	0,48	12	12	13	11,90	0,32	12	12	12	13,80	0,79	13	14	14
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME	13,60	2,12	12	12,50	15	13,60	1,58	13	14	14	11,70	1,83	11	12	13
G(ip) BPC µg(ip) LNAME						12,70	1,06	12	12,50	14	17,10	5,63	12	15,50	24
G(ip) BPC µg(po)	10,70	2	10	10	12	11,10	1,97	10	10,50	13	10,70	1,83	9	11,50	12
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip)	9,60	1,65	8	9,50	11	10,90	0,88	10	11	12	12,30	2,45	10	14	14
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME	11,70	2,41	10	11,50	12	12,80	1,69	12	13	14	13,70	2,36	12	13	14
G(ip) BPC µg(po) LNAME	9,60	1,58	8	10	10	11,80	0,63	12	12	12	11,60	2,37	9	12	14
G(ip) LNAME	9,40	0,84	9	10	10	12,30	0,82	12	12	13	11,20	2,70	9	10	13
K1 G(ip)	10,50	2,88	8	9,50	12	13,30	1,57	13	14	14	12,70	2,26	10	14	14

Tablica 7 Diureza u periodu 24h-168h															
K2 GFO(ip)	11,50	2,22	10	12	13	15,20	1,75	14	15,50	16	20,80	5,65	16	19,50	26
	72h					96h					120h				
	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	19,20	2,57	18	18	19	23,70	4,27	22	25	26	29,90	4,89	28	31,50	33
G(ip) Arg(ip) LNAME	21,40	5,91	20	20	21	24,80	8,07	22	25	30	18,80	14,37	8	16	20
G(ip) BPC ng(ip)	13,40	3,03	12	14	15	16,20	4,02	12	16,50	20	17,90	6,81	10	16,50	24
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	16,10	1,73	16	16	17	16,80	2,74	14	18	18	17	2,83	14	17,50	20
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	18,60	0,84	18	18	19	15,30	4,37	12	12,50	20	13,40	5,97	8	11	20
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	18,20	2,10	17	17,50	20	17,90	4,46	16	17,50	22	20,50	2,80	18	20	24
G(ip) BPC μg(ip)	12,90	3,25	12	12,50	14	12,90	1,97	12	12	13	14,60	3,06	11	16	17
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	17,60	0,70	17	17,50	18	15,80	0,79	15	16	16	17,50	0,85	17	17,50	18
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	16,50	3,66	13	17,50	20	19	3,09	16	19,50	22	16,10	5,28	10	19,50	20
G(ip) BPC μg(ip) LNAME	15,50	2,22	14	15	18	16,40	3,06	12	18	18	17,70	2,16	16	17	20
G(ip) BPC μg(po)	14,30	2,75	12	14	15	16,50	3,03	14	17	19	18,60	5,23	16	20	23
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	13,60	1,17	14	14	14	14	2,87	11	14	16	13,60	4,38	10	13	18
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	16,70	2,75	14	17	19	18,40	8,68	13	15,50	17	13,10	3,03	11	12,50	16
G(ip) BPC μg(po) LNAME	15	2,71	14	14	14	20,60	8,49	18	18	18	14,20	1,99	14	14	16
G(ip) LNAME	16,20	4,10	13	14,50	20	22,90	8,95	17	18	24	19,70	10,74	14	15	16

Tablica 7 Diureza u periodu 24h-168h

K1 G(ip)	15,90	4,51	12	15	20	25,20	8,32	24	26	28	28,50	8,93	30	32	34
K2 GFO(ip)	22,50	3,63	20	22	24	33,90	5,43	32	35	38	29,30	10,02	22	24,50	40
	144h					168h									
	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK					
G(ip) Arg(ip)	14,30	5,10	10	12,50	20	8	1,63	6	8	10					
G(ip) Arg(ip) LNAME	7,70	6,38	2	8	12	5,40	11	0	2	6					
G(ip) BPC ng(ip)	15,30	4,85	12	13,50	20	13,20	1,40	12	13	14					
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	18,70	2,16	18	19	20	16,30	2,45	15	16	17					
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	14,60	2,27	13	14	16	11,70	3,06	10	10,50	12					
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	20,90	1,10	20	21	22	17,50	2,22	17	18	18					
G(ip) BPC μg(ip)	11,50	1,78	11	12	12	11,50	1,43	10	12	12					
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	20,80	0,79	20	21	21	18	1,05	17	18	19					
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	13,40	2,22	12	13	16	14,30	2,87	13	14,50	16					
G(ip) BPC μg(ip) LNAME	19	1,15	18	19,50	20	17,30	2,71	14	18	20					
G(ip) BPC μg(po)	16	3,77	12	17	18	12,60	1,90	12	12,50	13					
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	11,50	2,12	10	10,50	14	14,90	3,81	14	15,50	18					
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	11,80	1,55	11	12	12	11,10	1,52	10	12	12					
G(ip) BPC μg(po) LNAME	10,60	0,97	10	10	12	12,20	4,05	8	14	14					

Tablica 7 Diureza u periodu 24h-168h										
G(ip) LNAME	14	7,45	10	11	12	10,20	3,65	6	12,50	13
K1 G(ip)	24,80	20,79	10	13	54	9,90	5,09	6	9,50	12
K2 GFO(ip)	14,50	9,59	6	10,50	20	5,30	4,42	2	4	8

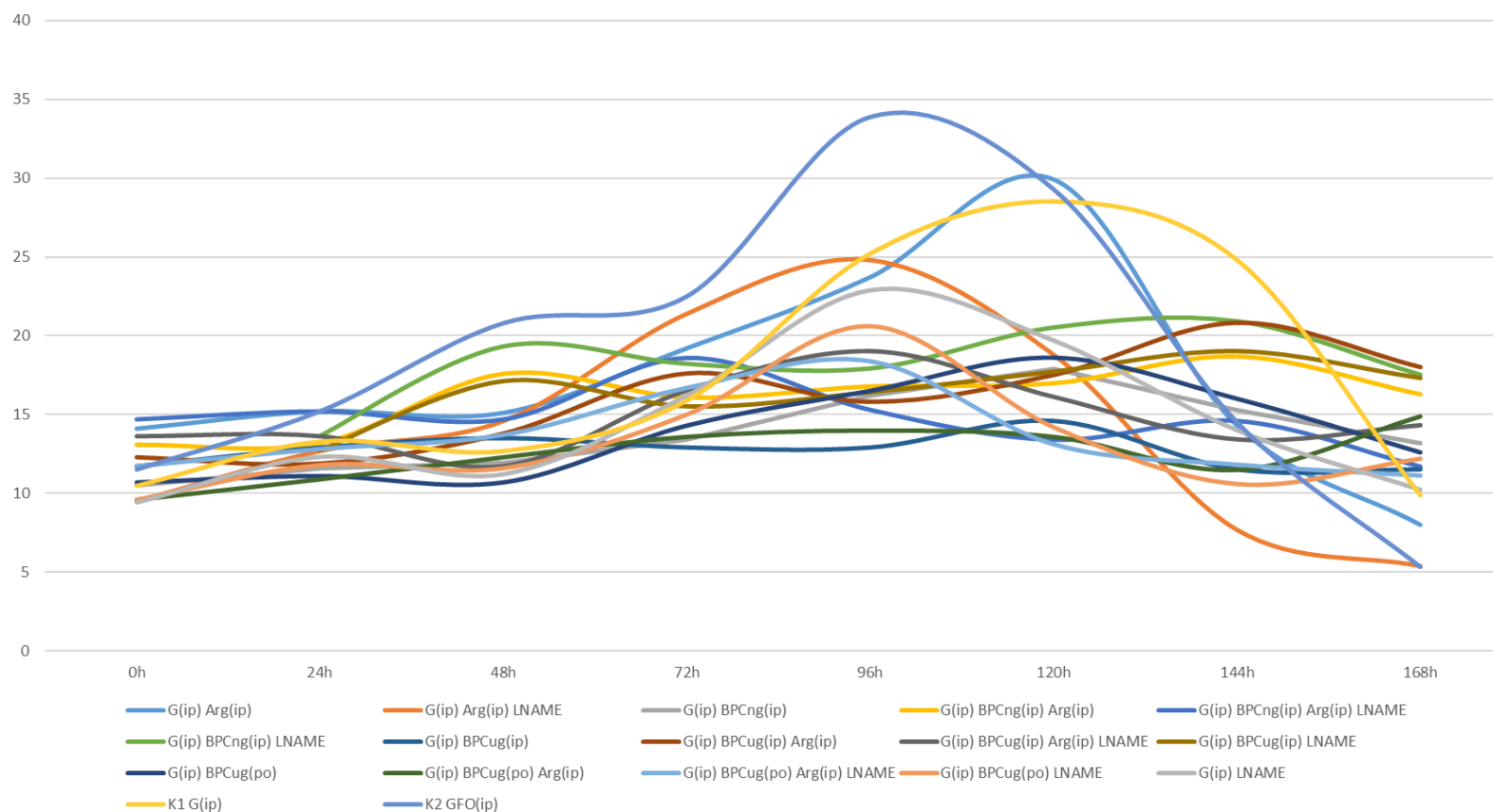
Tablica 7: Diureza u periodu 24h-168h. Tablica sadrži deskriptivne vrijednosti diureze. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil.

Tablica 8 Diureza u periodu 24h-168h															
Skupina	0h					24h					48h				
	M*	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK
BPC	10,97	2,34	10	10,50	12	11,87	2,33	10	11	14	12,03	2,74	11	12	14
BPC+Arg	11,67	1,90	11	12	13	12	1,34	11	12	12	14,57	3,68	13	14	15
BPC+LNAME	9,60	1,58	8	10	10	12,70	1,32	12	12	14	16	5,01	12	14,50	20
BPC+Arg+LNAME	13,33	2,45	12	12	15	13,87	1,87	13	14	16	13,37	2,48	12	13	14
Arg	14,10	1,73	12	14,50	16	15,20	2,10	14	14	17	15,10	4,41	14	14,50	15
LNAME	9,40	0,84	9	10	10	12,30	0,82	12	12	13	11,20	2,70	9	10	13
Arg+LNAME	9,50	1,18	8	10	10	12,70	2	12	14	14	14,60	5,60	12	14	14
K	11	2,55	8,50	11	12,50	14,25	1,89	14	14	15,50	16,75	5,90	14	15	19,50
	72h					96h					120h				

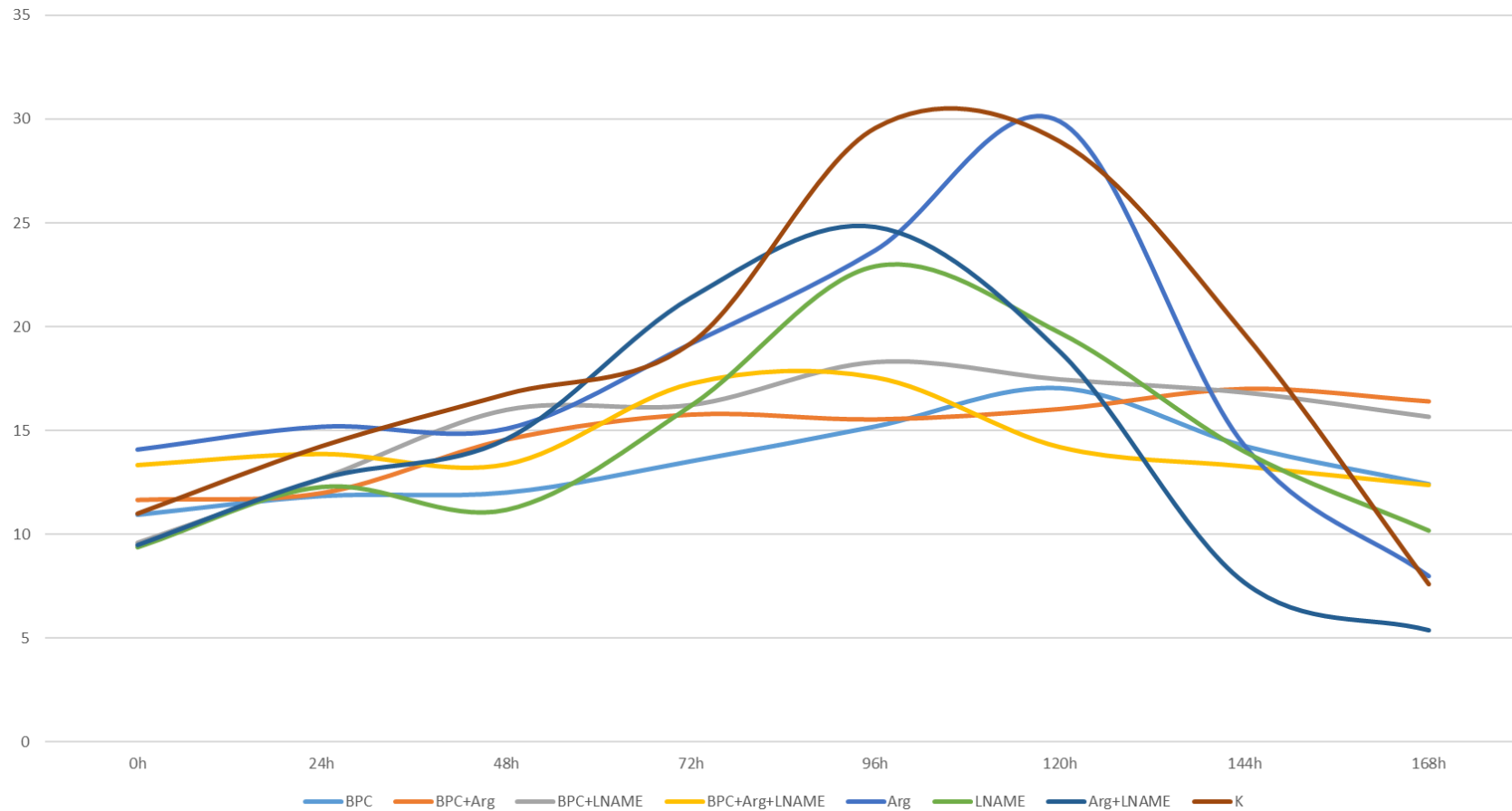
Tablica 8 Diureza u periodu 24h-168h

	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK
BPC	13,53	2,97	12	14	15	15,20	3,44	12	15	18	17,03	5,38	11	16	22
BPC+Arg	15,77	2,08	14	16	17	15,53	2,54	14	16	18	16,03	3,43	14	17	18
BPC+LNAME	16,23	2,69	14	16	18	18,30	5,88	16	18	18	17,47	3,46	16	16,50	20
BPC+Arg+LNAME	17,27	2,77	16	18	19	17,57	5,92	13	16	21	14,20	4,94	10	13,50	20
Arg	19,20	2,57	18	18	19	23,70	4,27	22	25	26	29,90	4,89	28	31,50	33
LNAME	16,20	4,10	13	14,50	20	22,90	8,95	17	18	24	19,70	10,74	14	15	16
Arg+LNAME	21,40	5,91	20	20	21	24,80	8,07	22	25	30	18,80	14,37	8	16	20
K	19,20	5,23	15	20	22	29,55	8,17	25	30	36	28,90	9,25	23	30	34
	144h					168h									
	M	SD	DK	Med	GK	M	SD	DK	Med	GK					
BPC	14,27	4,09	12	12	18	12,43	1,70	12	12	13					
BPC+Arg	17	4,41	14	19	20	16,40	2,90	15	17	18					
BPC+LNAME	16,83	4,67	12	19	20	15,67	3,89	14	17	18					
BPC+Arg+LNAME	13,27	2,29	12	13	14	12,37	2,86	10	12	14					
Arg	14,30	5,10	10	12,50	20	8	1,63	6	8	10					
LNAME	14	7,45	10	11	12	10,20	3,65	6	12,50	13					
Arg+LNAME	7,70	6,38	2	8	12	5,40	11	0	2	6					
K	19,65	16,62	8	12,50	24,50	7,60	5,21	4	8	11					

Tablica 8: Diureza u periodu 24h-168h u alternativno grupiranim životinjama. Tablica sadrži deskriptivne vrijednosti diureze. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil.



Grafikon 1: Prikazano je kretanje srednje vrijednosti diureze (stupac „M“ u Tablici 7) u svim promatranim skupinama.



Grafikon 2: Prikazano je kretanje srednje vrijednosti diureze u alternativno grupiranih životinja (stupac „M“ u Tablici 8) u svim promatranim skupinama.

Tablica 9 Srednje vrijednosti diureze <u>prema vremenu mjerenja</u> (po stupcu ↓)								
	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
G(ip) Arg(ip)	14,1	15,2	15,1	19,2	23,7	29,9	14,3	8
G(ip) Arg(ip) LNAME	9,5	12,7	14,6	21,4	24,8	18,8	7,7	5,4
G(ip) BPC ng(ip)	10,5	11,6	11,9	13,4	16,2	17,9	15,3	13,2
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	13,1	13,2	17,6	16,1	16,8	17	18,7	16,3
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	14,7	15,2	14,7	18,6	15,3	13,4	14,6	11,7
G(ip) BPC ng(ip) LNAME		13,6	19,3	18,2	17,9	20,5	20,9	17,5
G(ip) BPC μg(ip)	11,7	12,9	13,5	12,9	12,9	14,6	11,5	11,5
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	12,3	11,9	13,8	17,6	15,8	17,5	20,8	18
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	13,6	13,6	11,7	16,5	19	16,1	13,4	14,3
G(ip) BPC μg(ip) LNAME		12,7	17,1	15,5	16,4	17,7	19	17,3
G(ip) BPC μg(po)	10,7	11,1	10,7	14,3	16,5	18,6	16	12,6
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	9,6	10,9	12,3	13,6	14	13,6	11,5	14,9
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	11,7	12,8	13,7	16,7	18,4	13,1	11,8	11,1
G(ip) BPC μg(po) LNAME	9,6	11,8	11,6	15	20,6	14,2	10,6	12,2
G(ip) LNAME	9,4	12,3	11,2	16,2	22,9	19,7	14	10,2
K1 G(ip)	10,5	13,3	12,7	15,9	25,2	28,5	24,8	9,9
K2 GFO(ip)	11,5	15,2	20,8	22,5	33,9	29,3	14,5	5,3

Tablica 9. Prikazane su vrijednosti diureze prema stupcu. Tablica prikazuje srednje vrijednosti diureze, od relativno najniže (zeleno) do relativno najviše (crveno). Vrijednosti su označene na taj način prema stupcu (skupina životinja s najnižom vrijednošću u određenoj vremenskoj točki označena je zeleno).

Tablica 10 Srednje vrijednosti diureze prema skupini životinja (po retku →)								
	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
G(ip) Arg(ip)	14,1	15,2	15,1	19,2	23,7	29,9	14,3	8
G(ip) Arg(ip) LNAME	9,5	12,7	14,6	21,4	24,8	18,8	7,7	5,4
G(ip) BPC ng(ip)	10,5	11,6	11,9	13,4	16,2	17,9	15,3	13,2
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	13,1	13,2	17,6	16,1	16,8	17	18,7	16,3
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	14,7	15,2	14,7	18,6	15,3	13,4	14,6	11,7
G(ip) BPC ng(ip) LNAME		13,6	19,3	18,2	17,9	20,5	20,9	17,5
G(ip) BPC μg(ip)	11,7	12,9	13,5	12,9	12,9	14,6	11,5	11,5
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	12,3	11,9	13,8	17,6	15,8	17,5	20,8	18
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	13,6	13,6	11,7	16,5	19	16,1	13,4	14,3
G(ip) BPC μg(ip) LNAME		12,7	17,1	15,5	16,4	17,7	19	17,3
G(ip) BPC μg(po)	10,7	11,1	10,7	14,3	16,5	18,6	16	12,6
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	9,6	10,9	12,3	13,6	14	13,6	11,5	14,9
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	11,7	12,8	13,7	16,7	18,4	13,1	11,8	11,1
G(ip) BPC μg(po) LNAME	9,6	11,8	11,6	15	20,6	14,2	10,6	12,2
G(ip) LNAME	9,4	12,3	11,2	16,2	22,9	19,7	14	10,2
K1 G(ip)	10,5	13,3	12,7	15,9	25,2	28,5	24,8	9,9
K2 GFO(ip)	11,5	15,2	20,8	22,5	33,9	29,3	14,5	5,3

Tablica 10. Prikazane su vrijednosti diureze prema retku. Tablica prikazuje srednje vrijednosti diureze, od relativno najniže (zeleno) do relativno najviše (crveno). Vrijednosti su označene na taj način prema retku (vremenska točka s najnižom vrijednošću unutar određene skupine označena je zeleno)

Tablica 11 Srednje vrijednosti diureze								
	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
G(ip) Arg(ip)	14,1	15,2	15,1	19,2	23,7	29,9	14,3	8
G(ip) Arg(ip) LNAME	9,5	12,7	14,6	21,4	24,8	18,8	7,7	5,4
G(ip) BPC ng(ip)	10,5	11,6	11,9	13,4	16,2	17,9	15,3	13,2
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	13,1	13,2	17,6	16,1	16,8	17	18,7	16,3
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	14,7	15,2	14,7	18,6	15,3	13,4	14,6	11,7
G(ip) BPC ng(ip) LNAME		13,6	19,3	18,2	17,9	20,5	20,9	17,5
G(ip) BPC μg(ip)	11,7	12,9	13,5	12,9	12,9	14,6	11,5	11,5
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	12,3	11,9	13,8	17,6	15,8	17,5	20,8	18
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	13,6	13,6	11,7	16,5	19	16,1	13,4	14,3
G(ip) BPC μg(ip) LNAME		12,7	17,1	15,5	16,4	17,7	19	17,3
G(ip) BPC μg(po)	10,7	11,1	10,7	14,3	16,5	18,6	16	12,6
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	9,6	10,9	12,3	13,6	14	13,6	11,5	14,9
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	11,7	12,8	13,7	16,7	18,4	13,1	11,8	11,1
G(ip) BPC μg(po) LNAME	9,6	11,8	11,6	15	20,6	14,2	10,6	12,2
G(ip) LNAME	9,4	12,3	11,2	16,2	22,9	19,7	14	10,2
K1 G(ip)	10,5	13,3	12,7	15,9	25,2	28,5	24,8	9,9
K2 GFO(ip)	11,5	15,2	20,8	22,5	33,9	29,3	14,5	5,3

Tablica 11. Prikazane su srednje vrijednosti diureze. Tablica prikazuje srednje vrijednosti diureze, od relativno najniže (zeleno) do relativno najviše (crveno). Vrijednosti su označene prema svim vrijednostima (najniže vrijednost u tablici je zelena a najviša crvena).

Tablica 12 Srednje vrijednosti diureze								
	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
BPC	10,97	11,87	12,03	13,53	15,20	17,03	14,27	12,43
BPC+Arg	11,67	12,00	14,57	15,77	15,53	16,03	17,00	16,40
BPC+LNAME	9,60	12,70	16,00	16,23	18,30	17,47	16,83	15,67
BPC+Arg+LNAME	13,33	13,87	13,37	17,27	17,57	14,20	13,27	12,37
Arg	14,10	15,20	15,10	19,20	23,70	29,90	14,30	8,00
LNAME	9,40	12,30	11,20	16,20	22,90	19,70	14,00	10,20
Arg+LNAME	9,50	12,70	14,60	21,40	24,80	18,80	7,70	5,40
K	11,00	14,25	16,75	19,20	29,55	28,90	19,65	7,60

Tablica 12. Prikazane su srednje vrijednosti diureze po alternativnom grupiranju životinja.

Tablica prikazuje srednje vrijednosti diureze, od relativno najniže (zeleno) do relativno najviše (crveno). Vrijednosti su označene prema svim vrijednostima (najniže vrijednost u tablici je zelena a najviša crvena).

5.2. Elektrokardiogram

Životinjama je svakodnevno sniman elektrokardiogram koji se naknadno analizirao. Eksperimentalne životinje neovisno o skupini nisu pokazale statistički značajne razlike u frekvenciji, visini T vala i PR intervala. Asistolčkih pauza, malignih poremećaja ritma i promjena ST segmenta nije zabilježeno tijekom snimanja. U obzir valja uzeti i tehničke manjkavosti snimanja na budnim životinjama.

5.3. Biokemijska analiza

Iz seruma su određivane vrijednosti serumskog kreatinina, ureje, natrija, kalija, kalcija i magnezija [14,72,80]. Vrijednosti ureje i kreatinina statistički značajno su bile manje u životinja tretiranih s pentadekapeptidom BPC 157. Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako primjena L-arginina povisuje vrijednosti ureje, ali bez statističke značajnosti, dok zajednička primjena L-arginina i L-NAME uzrokuje dodatno povišenje vrijednosti serumske ureje, a

primjena L-NAME ima slične vrijednosti ureje kao i životinje tretirane BPC 157. Primjena pentadekapeptida BPC 157 s L-argininom samostalno i zajednički s L-argininom i L-NAMEom uzrokuje statistički značajnije manje vrijednosti serumske ureje u odnosu na skupine bez BPC 157, dok primjena BPC 157 s L-NAME nema statistički značajniju razliku o odnosu na životinje tretirane s L-NAME.

Tablica 13 Urea										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	22,65	10	13,70	29,40	5,06	19,03	26,27	20,20	20,85	28,20
G(ip) Arg(ip) LNAME	45,36	10	15,80	76,60	24,42	27,89	62,83	20,60	44,20	70,50
G(ip) BPC ng(ip)	12,96	10	5,90	31,80	7,56	7,55	18,37	6,80	12,90	14,50
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	24,28	10	10,10	44,40	16,57	12,43	36,13	11,00	13,15	43,70
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	26,16	10	16,40	45,80	10,76	18,46	33,86	18,30	22,55	29,00
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	10,8	10	6,70	14,00	2,40	9,09	12,52	8,90	10,20	12,96
G(ip) BPC μg(ip)	8,95	10	6,90	11,40	1,82	7,65	10,25	7,10	8,70	10,90
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	11,08	10	8,60	14,50	2,41	9,36	12,80	8,80	10,70	13,40
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	9,1	10	6,90	11,80	1,65	7,92	10,28	7,20	9,50	9,70
G(ip) BPC μg(ip) LNAME	22,84	10	9,80	44,80	14,45	12,50	33,18	14,00	16,50	42,60
G(ip) BPC μg(po)	10,62	10	4,80	13,80	3,21	8,32	12,92	7,70	12,35	13,10
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	13,38	10	11,90	16,60	1,77	12,11	14,65	12,30	12,40	15,40
G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	14,79	10	6,90	43,20	11,39	6,64	22,94	8,60	9,30	20,90
G(ip) BPC μg(po) LNAME	16,16	10	6,50	39,70	13,37	6,60	25,72	6,80	8,60	19,20
G(ip) LNAME	17,38	10	6,30	40,10	12,61	8,36	26,40	6,80	16,60	17,90
K1 G(ip)	26,54	10	8,00	36,80	10,55	18,99	34,09	22,10	27,50	36,30
K2 GFO(ip)	19,55	10	8,50	35,40	8,48	13,48	25,62	10,80	18,65	26,00

Tablica 13. Prikazane su vrijednosti serumske ureje. Tablica prikazuje vrijednost ureje izražene μmmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 14 Urea										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	10,84	30	4,80	31,80	4,98	8,98	12,70	7,50	10,55	13,10
BPC+Arg	16,25	30	8,60	44,40	11,06	12,12	20,38	11,00	12,40	14,50
BPC+LNAME	16,60	30	6,50	44,80	12,13	12,07	21,13	8,90	12,85	16,80
BPC+Arg+LNAME	16,68	30	6,90	45,80	11,36	12,44	20,93	8,90	11,00	20,90
Arg	22,65	10	13,70	29,40	5,06	19,03	26,27	20,20	20,85	28,20
LNAME	17,38	10	6,30	40,10	12,61	8,36	26,40	6,80	16,60	17,90
Arg+LNAME	45,36	10	15,80	76,60	24,42	27,89	62,83	20,60	44,20	70,50
K	23,05	20	8,00	36,80	9,98	18,37	27,72	14,70	22,90	32,20

Tablica 14. Prikazane su vrijednosti serumske ureje po alternativnom grupiranju životinja.

Tablica prikazuje vrijednost ureje izražene $\mu\text{mol/L}$. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Iz dobivenih rezultata vidljivo je kako primjena L-arginina samostalno i sinergijski s L-NAME statistički značajnije povisuje vrijednosti serumskog kreatinina. Primjena L-NAME ne uzrokuje statistički značajno promjenjene vrijednosti kreatinina. Primjena pentadekapeptida BPC 157 s L-argininom i L-NAMEom uzrokuje statistički značajnije manje vrijednosti serumskog kreatinina u odnosu na iste grupe životinja u kojih nije primjenjen BPC 157. Primjena BPC 157 s L-NAME i samo s L-argininom nema statistički značajniju razliku o odnosu na životinje tretirane s L-NAME. Životinje tretirane samo BPC 157 pokazuju statistički značajno niže vrijednosti kreatinina u odnosu na skupine životinja koje nisu tretirane s BPC 157, osim na skupinu životinja sa samostalnom primjenom L-NAME. Statistički značajnije povišene su vrijednosti kalija u životinja tretiranih BPC 157 dok su vrijednosti natrija unutar referentnih intervala i bez statistički značajnih razlika. Statistički značajnije povišene vrijednosti magnezija su u kontrolnoj grupi životinja te u grupi

tretiranom L-argininom i L-NAMEom, dok vrijednosti kalcija pokazuju statistički značajnije promjene samo u životinja tretiranih zajednički s L-NAME i L-argininom.

Tablica 15 Kreatinin

	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	190,7	10	120,0	274,0	60,2	147,6	233,8	145,0	156,5	252,0
G(ip) Arg(ip) LNAME	407,8	10	145,0	689,0	234,2	240,3	575,3	173,0	371,0	655,0
G(ip) BPC ng(ip)	82,8	10	36,0	116,0	28,0	62,8	102,8	59,0	83,5	108,0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	193	10	76,0	370,0	139,6	93,1	292,9	85,0	89,5	349,0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	171,3	10	99,0	354,0	96,7	102,2	240,4	100,0	138,0	172,0
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	93,7	10	54,0	108,2	15,2	82,9	104,6	94,0	95,9	104,0
G(ip) BPC μ g(ip)	72,4	10	45,0	106,0	26,5	53,4	91,4	47,0	66,0	101,0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	65,5	10	53,0	80,0	10,5	58,0	73,0	56,0	65,5	74,0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	67,4	10	50,0	93,0	15,5	56,3	78,5	55,0	63,5	75,0
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	185,1	10	87,0	407,0	142,0	83,5	286,7	98,0	101,5	373,0
G(ip) BPC μ g(po)	68	10	47,0	87,0	11,5	59,8	76,2	62,0	67,5	71,0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	86,9	10	67,0	106,0	16,0	75,5	98,3	74,0	86,0	102,0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	117,3	10	45,0	372,0	101,6	44,6	190,0	50,0	85,5	167,0
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	128,4	10	60,0	321,0	102,6	55,0	201,8	74,0	85,0	102,0
G(ip) LNAME	131,7	10	56,0	318,0	97,8	61,7	201,7	69,0	106,0	110,0
K1 G(ip)	185,3	10	50,0	260,0	70,9	134,6	236,0	192,0	204,0	208,0
K2 GFO(ip)	156,7	10	81,0	208,0	39,5	128,5	184,9	123,0	169,0	186,0

Tablica 15. Prikazane su vrijednosti serumskog kreatinina. Tablica prikazuje vrijednost kreatinina izražene u $\mu\text{mol/L}$. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil; N = broj životinja u skupini.

Tablica 16 Kreatinin										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	74,4	30	36,0	116,0	23,3	65,7	83,1	59,0	68,5	98,0
BPC+Arg	115,1	30	53,0	370,0	96,8	79,0	151,3	71,0	79,0	99,0
BPC+LNAME	135,7	30	54,0	407,0	105,2	96,5	175,0	88,0	98,0	104,0
BPC+Arg+LNAME	118,7	30	45,0	372,0	89,7	85,2	152,1	55,0	92,5	167,0
Arg	190,7	10	120,0	274,0	60,2	147,6	233,8	145,0	156,5	252,0
LNAME	131,7	10	56,0	318,0	97,8	61,7	201,7	69,0	106,0	110,0
Arg+LNAME	407,8	10	145,0	689,0	234,2	240,3	575,3	173,0	371,0	655,0
K	171,0	20	50,0	260,0	57,7	144,0	198,0	130,5	187,0	207,5

Tablica 16. Prikazane su vrijednosti serumskog kreatinina po alternativnom grupiranju životinja. Tablica prikazuje vrijednost kreatinina izražene u $\mu\text{mol/L}$. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil; N = broj životinja u skupini.

Tablica 17 Kalij

	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	5,47	10	5,00	6,00	0,30	5,26	5,68	5,30	5,45	5,70
G(ip) Arg(ip) LNAME	4,67	10	3,40	6,40	1,04	3,93	5,41	3,70	4,70	5,00
G(ip) BPC ng(ip)	6,24	10	5,30	7,50	0,65	5,78	6,70	5,90	6,00	6,60
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	5,49	10	4,30	6,90	0,85	4,88	6,10	5,10	5,30	5,70
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	5,18	10	4,60	5,80	0,39	4,90	5,46	4,90	5,10	5,50
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	5,32	10	4,00	7,00	1,14	4,50	6,14	4,00	5,25	6,00
G(ip) BPC μ g(ip)	5,59	10	5,10	6,00	0,31	5,37	5,81	5,30	5,65	5,80
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	5,34	10	4,90	5,70	0,27	5,15	5,53	5,20	5,35	5,50
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	5,33	10	4,90	6,40	0,46	5,00	5,66	5,00	5,20	5,40
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	5,59	10	4,10	7,20	1,17	4,75	6,43	4,70	5,35	7,10
G(ip) BPC μ g(po)	6,33	10	5,20	7,70	0,77	5,78	6,88	5,90	6,25	6,80
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	4,93	10	4,40	5,50	0,43	4,62	5,24	4,60	4,85	5,30
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	5,48	10	4,30	7,70	1,20	4,62	6,34	4,70	5,10	5,80
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	4,95	10	4,40	5,80	0,50	4,59	5,31	4,50	4,90	5,00
G(ip) LNAME	5,48	10	4,60	7,20	1,01	4,76	6,20	4,70	5,00	5,90
K1 G(ip)	5,31	10	3,20	6,80	1,12	4,51	6,11	5,40	5,50	5,70
K2 GFO(ip)	6,27	10	5,10	7,50	0,76	5,73	6,81	5,50	6,40	6,80

Tablica 17. Prikazane su vrijednosti serumskog kalija . Tablica prikazuje vrijednosti kalija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 18 Kalij										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	6,05	30	5,10	7,70	0,68	5,80	6,31	5,60	6,00	6,50
BPC+Arg	5,25	30	4,30	6,90	0,60	5,03	5,48	4,90	5,20	5,50
BPC+LNAME	5,29	30	4,00	7,20	0,99	4,92	5,66	4,50	5,00	5,80
BPC+Arg+LNAME	5,33	30	4,30	7,70	0,76	5,05	5,61	4,90	5,15	5,50
Arg	5,47	10	5,00	6,00	0,30	5,26	5,68	5,30	5,45	5,70
LNAME	5,48	10	4,60	7,20	1,01	4,76	6,20	4,70	5,00	5,90
Arg+LNAME	4,67	10	3,40	6,40	1,04	3,93	5,41	3,70	4,70	5,00
K	5,79	20	3,20	7,50	1,05	5,30	6,28	5,45	5,70	6,45

Tablica 18. Prikazane su vrijednosti serumskog kalija po alternativnom grupiranju životinja . Tablica prikazuje vrijednosti kalija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 19 Natrij

	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	138	10	132,0	144,0	4,2	135,0	141,0	134,0	139,0	141,0
G(ip) Arg(ip) LNAME	135,1	10	121,0	147,0	7,7	129,6	140,6	132,0	134,0	137,0
G(ip) BPC ng(ip)	133,1	10	118,0	142,0	8,4	127,1	139,1	130,0	134,5	141,0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	140,5	10	128,0	150,0	6,1	136,1	144,9	139,0	139,5	142,0
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	137,9	10	124,0	146,0	6,5	133,3	142,5	136,0	138,0	142,0
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	135,5	10	126,0	141,0	5,1	131,9	139,2	133,0	137,5	139,4
G(ip) BPC μ g(ip)	144,1	10	137,0	160,0	7,5	138,7	149,5	137,0	141,5	147,0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	137,1	10	127,0	145,0	6,3	132,6	141,6	133,0	136,5	144,0
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	135,5	10	123,0	146,0	7,5	130,2	140,8	132,0	135,0	139,0
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	133,5	10	114,0	148,0	11,0	125,6	141,4	124,0	137,5	141,0
G(ip) BPC μ g(po)	137,6	10	130,0	152,0	6,7	132,8	142,4	132,0	137,0	141,0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	138	10	127,0	151,0	6,4	133,5	142,5	133,0	140,0	140,0
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	137,3	10	122,0	143,0	6,2	132,9	141,7	135,0	139,0	141,0
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	138	10	135,0	141,0	2,3	136,4	139,6	135,0	138,5	140,0
G(ip) LNAME	134,1	10	123,0	153,0	9,1	127,6	140,6	127,0	133,0	139,0
K1 G(ip)	140	10	128,0	150,0	6,9	135,0	145,0	133,0	141,5	143,0
K2 GFO(ip)	132	10	117,0	148,0	9,6	125,1	138,9	126,0	131,0	140,0

Tablica 19. Prikazane su vrijednosti serumskog natrija. Tablica prikazuje vrijednosti natrija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 20 Natrij										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	138,3	30	118,0	160,0	8,6	135,0	141,5	133,0	137,5	142,0
BPC+Arg	138,5	30	127,0	151,0	6,2	136,2	140,9	134,0	139,5	141,0
BPC+LNAME	135,7	30	114,0	148,0	7,1	133,0	138,3	135,0	138,0	140,0
BPC+Arg+LNAME	136,9	30	122,0	146,0	6,6	134,4	139,4	133,0	138,5	141,0
Arg	138,0	10	132,0	144,0	4,2	135,0	141,0	134,0	139,0	141,0
LNAME	134,1	10	123,0	153,0	9,1	127,6	140,6	127,0	133,0	139,0
Arg+LNAME	135,1	10	121,0	147,0	7,7	129,6	140,6	132,0	134,0	137,0
K	136,0	20	117,0	150,0	9,1	131,7	140,3	128,5	138,0	143,0

Tablica 20. Prikazane su vrijednosti serumskog natrija po alternativnom grupiranju životinja. Tablica prikazuje vrijednosti natrija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 21 Kalcij

	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	2,66	10	2,44	2,86	0,13	2,57	2,75	2,54	2,68	2,75
G(ip) Arg(ip) LNAME	3,29	10	2,70	3,68	0,37	3,02	3,55	2,98	3,42	3,59
G(ip) BPC ng(ip)	2,45	10	2,32	2,73	0,14	2,35	2,55	2,36	2,40	2,46
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	2,41	10	2,13	2,63	0,16	2,29	2,52	2,32	2,43	2,53
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	2,54	10	2,32	2,76	0,16	2,42	2,65	2,38	2,50	2,68
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	2,67	10	2,00	3,00	0,31	2,45	2,89	2,59	2,61	3,00
G(ip) BPC μ g(ip)	2,36	10	2,18	2,56	0,12	2,27	2,45	2,26	2,37	2,43
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	2,58	10	2,33	2,79	0,16	2,46	2,70	2,51	2,60	2,71
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	2,56	10	2,26	2,78	0,13	2,46	2,65	2,51	2,57	2,60
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	2,45	10	2,22	2,66	0,14	2,36	2,55	2,39	2,43	2,59
G(ip) BPC μ g(po)	2,81	10	2,64	3,01	0,12	2,72	2,90	2,75	2,81	2,88
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	2,65	10	2,33	2,99	0,19	2,51	2,78	2,51	2,69	2,74
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	2,71	10	2,33	3,34	0,27	2,51	2,90	2,56	2,67	2,79
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	2,56	10	2,47	2,61	0,04	2,53	2,59	2,54	2,57	2,58
G(ip) LNAME	2,63	10	2,31	2,76	0,18	2,51	2,76	2,56	2,72	2,76
K1 G(ip)	2,63	10	2,20	3,10	0,35	2,37	2,88	2,30	2,48	3,00
K2 GFO(ip)	2,94	10	2,71	3,07	0,11	2,86	3,02	2,88	2,95	3,03

Tablica 21. Prikazane su vrijednosti serumskog kalcija. Tablica prikazuje vrijednosti kalcija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 2 Kalcij										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	2,54	30,0	2,18	3,01	0,23	2,45	2,63	2,36	2,45	2,75
BPC+Arg	2,54	30,0	2,13	2,99	0,20	2,47	2,62	2,38	2,55	2,71
BPC+LNAME	2,56	30,0	2,00	3,00	0,21	2,48	2,64	2,46	2,58	2,61
BPC+Arg+LNAME	2,60	30,0	2,26	3,34	0,21	2,52	2,68	2,48	2,57	2,70
Arg	2,66	10,0	2,44	2,86	0,13	2,57	2,75	2,54	2,68	2,75
LNAME	2,63	10,0	2,31	2,76	0,18	2,51	2,76	2,56	2,72	2,76
Arg+LNAME	3,29	10,0	2,70	3,68	0,37	3,02	3,55	2,98	3,42	3,59
K	2,78	20,0	2,20	3,10	0,30	2,64	2,92	2,48	2,92	3,02

Tablica 22. Prikazane su vrijednosti serumskog kalcija po alternativnom grupiranju životinja. Tablica prikazuje vrijednosti kalcija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 23 Magnezij

	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	1,46	10	1,35	1,75	0,12	1,37	1,54	1,37	1,43	1,47
G(ip) Arg(ip) LNAME	2,03	10	1,47	2,55	0,36	1,77	2,29	1,71	2,05	2,35
G(ip) BPC ng(ip)	1,23	10	1,05	1,46	0,12	1,15	1,32	1,15	1,24	1,26
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	1,52	10	1,28	1,84	0,22	1,37	1,67	1,37	1,40	1,74
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	1,47	10	1,29	1,74	0,14	1,37	1,58	1,37	1,42	1,53
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	1,31	10	1,11	1,46	0,12	1,22	1,39	1,23	1,32	1,42
G(ip) BPC μ g(ip)	1,18	10	1,00	1,37	0,14	1,08	1,28	1,02	1,23	1,25
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip)	1,3	10	1,05	1,58	0,19	1,16	1,43	1,13	1,29	1,46
G(ip) BPC μ g(ip) Arg(ip) LNAME	1,3	10	1,21	1,34	0,04	1,27	1,33	1,28	1,30	1,34
G(ip) BPC μ g(ip) LNAME	1,43	10	1,24	1,65	0,14	1,33	1,53	1,34	1,43	1,57
G(ip) BPC μ g(po)	1,39	10	1,14	1,63	0,17	1,27	1,51	1,23	1,35	1,54
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip)	1,35	10	1,20	1,46	0,08	1,30	1,41	1,31	1,37	1,42
G(ip) BPC μ g(po) Arg(ip) LNAME	1,36	10	1,18	1,90	0,22	1,20	1,51	1,22	1,29	1,42
G(ip) BPC μ g(po) LNAME	1,22	10	1,00	1,37	0,14	1,12	1,32	1,16	1,24	1,32
G(ip) LNAME	1,29	10	1,08	1,68	0,22	1,14	1,45	1,14	1,23	1,29
K1 G(ip)	1,55	10	1,20	1,90	0,19	1,42	1,69	1,53	1,53	1,58
K2 GFO(ip)	1,62	10	1,23	1,78	0,16	1,51	1,74	1,56	1,66	1,70

Tablica 23. Prikazane su vrijednosti serumskog magnezija. Tablica prikazuje vrijednosti magnezija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 3 Magnezij										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	1,27	30,0	1,00	1,63	0,17	1,21	1,33	1,15	1,25	1,35
BPC+Arg	1,39	30,0	1,05	1,84	0,19	1,32	1,46	1,28	1,38	1,46
BPC+LNAME	1,32	30,0	1,00	1,65	0,15	1,26	1,38	1,23	1,33	1,43
BPC+Arg+LNAME	1,37	30,0	1,18	1,90	0,16	1,31	1,44	1,28	1,34	1,42
Arg	1,46	10,0	1,35	1,75	0,12	1,37	1,54	1,37	1,43	1,47
LNAME	1,29	10,0	1,08	1,68	0,22	1,14	1,45	1,14	1,23	1,29
Arg+LNAME	2,03	10,0	1,47	2,55	0,36	1,77	2,29	1,71	2,05	2,35
K	1,59	20,0	1,20	1,90	0,17	1,51	1,67	1,53	1,58	1,70

Tablica 24. Prikazane su vrijednosti serumskog magnezija po alternativnom grupiranju životinja. Tablica prikazuje vrijednosti magnezija izraženog u mmol/L. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

5.4. Makroskopska analiza

Statistički značajnije povećanje srednje vrijednosti bubrega zabilježeno je u kontrolnih životinja i životinja tretiranih L-argininom te L-argininom i L-NAMEom. Srednja masa bubrega izračun je zbroja mase oba bubrega dijeljenog s 2 koji se podijeli s masom životinje [μ].

Tablica 25 Srednja masa bubrega										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
G(ip) Arg(ip)	0,0049	10	0,0040	0,0055	0,0004	0,0046	0,0052	0,0048	0,0050	0,0050
G(ip) Arg(ip) LNAME	0,0048	10	0,0040	0,0052	0,0005	0,0045	0,0051	0,0044	0,0050	0,0051
G(ip) BPC ng(ip)	0,004	10	0,0036	0,0044	0,0003	0,0038	0,0042	0,0037	0,0040	0,0042
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	0,0042	10	0,0037	0,0046	0,0004	0,0039	0,0044	0,0038	0,0042	0,0045
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	0,0042	10	0,0033	0,0049	0,0005	0,0038	0,0045	0,0038	0,0042	0,0046
G(ip) BPC ng(ip) LNAME	0,004	10	0,0038	0,0041	0,0001	0,0039	0,0041	0,0039	0,0039	0,0041
G(ip) BPC μg(ip)	0,0041	10	0,0038	0,0046	0,0002	0,0039	0,0042	0,0039	0,0040	0,0042
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	0,0039	10	0,0036	0,0042	0,0002	0,0037	0,0040	0,0037	0,0039	0,0040
G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	0,0037	10	0,0030	0,0041	0,0004	0,0034	0,0039	0,0033	0,0038	0,0040
G(ip) BPC μg(ip) LNAME	0,0039	10	0,0035	0,0045	0,0003	0,0037	0,0041	0,0037	0,0039	0,0041
G(ip) BPC μg(po)	0,0041	10	0,0033	0,0051	0,0005	0,0038	0,0045	0,0040	0,0041	0,0042

G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ Arg(ip)	0,004	10	0,0035	0,0047	0,0004	0,0037	0,0042	0,0037	0,0039	0,0041
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ Arg(ip) LNAME	0,0041	10	0,0037	0,0044	0,0002	0,0039	0,0042	0,0039	0,0041	0,0042
G(ip) BPC $\mu\text{g}(\text{po})$ LNAME	0,0037	10	0,0033	0,0041	0,0003	0,0035	0,0039	0,0033	0,0037	0,0038
G(ip) LNAME	0,0041	10	0,0032	0,0054	0,0008	0,0036	0,0047	0,0036	0,0040	0,0044
K1 G(ip)	0,0048	10	0,0039	0,0055	0,0005	0,0044	0,0052	0,0047	0,0048	0,0054
K2 GFO(ip)	0,0051	10	0,0047	0,0059	0,0004	0,0048	0,0053	0,0048	0,0050	0,0050

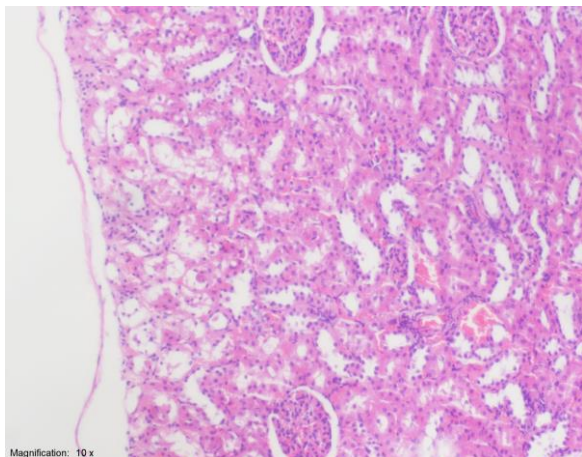
Tablica 25. Prikazane su srednje mase bubrega. Tablica prikazuje srednje vrijednosti bubrega. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

Tablica 4 Srednja masa bubrega										
	M	N	Min	Maks	SD	-95% IP	+95% IP	DK	Med	GK
BPC	0,0041	30	0,0033	0,0051	0,0004	0,0039	0,0042	0,0039	0,0041	0,0042
BPC+Arg	0,0040	30	0,0035	0,0047	0,0003	0,0039	0,0041	0,0038	0,0039	0,0042
BPC+LNAME	0,0038	30	0,0033	0,0045	0,0003	0,0037	0,0039	0,0037	0,0039	0,0041
BPC+Arg+LNAME	0,0040	30	0,0030	0,0049	0,0004	0,0038	0,0041	0,0037	0,0040	0,0042
Arg	0,0049	10	0,0040	0,0055	0,0004	0,0046	0,0052	0,0048	0,0050	0,0050
LNAME	0,0041	10	0,0032	0,0054	0,0008	0,0036	0,0047	0,0036	0,0040	0,0044
Arg+LNAME	0,0048	10	0,0040	0,0052	0,0005	0,0045	0,0051	0,0044	0,0050	0,0051
K	0,0049	20	0,0039	0,0059	0,0005	0,0047	0,0052	0,0048	0,0049	0,0052

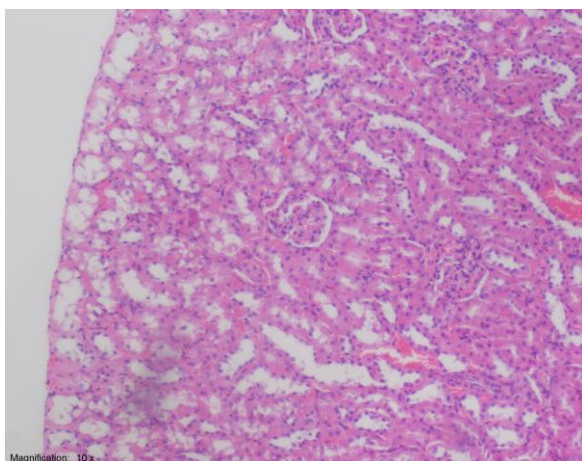
Tablica 26. Prikazane su srednje mase bubrega po alternativnom grupiranju životinja. Tablica prikazuje srednje vrijednosti bubrega. Srednja masa bubrega izračun je zbroja mase oba bubrega dijeljenog s 2 koji se podijeli s masom životinje [58,87]. M = srednja vrijednost; SD = standardna devijacija; DK, Med, GK = medijan, donji i gornji kvartil, N = broj životinja u skupini.

5.5. Patohistološka analiza

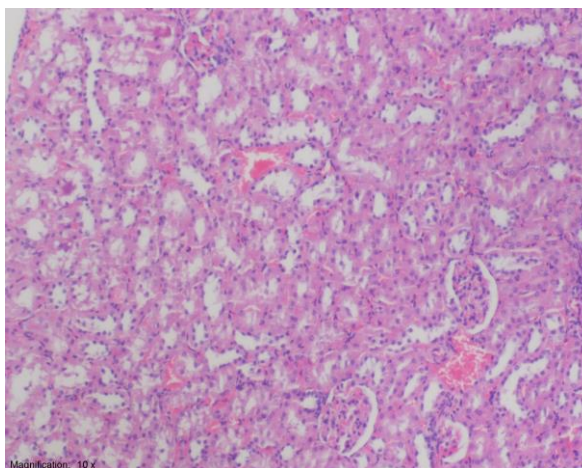
Statistički značajniji manje bodova imaju životinje tretirane pentadekapeptidom BPC 157.



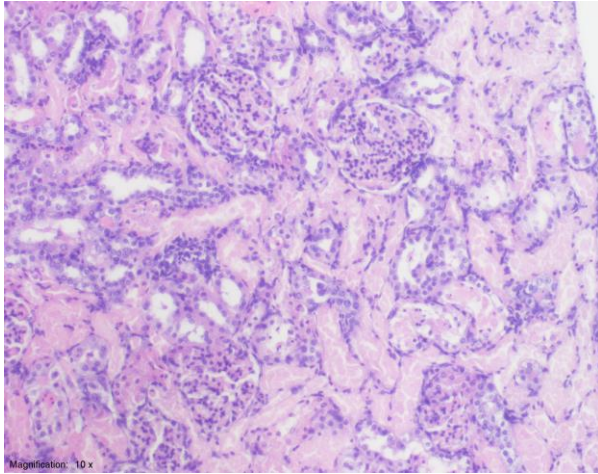
Slika 11. *PHD uzorak bubrega životinje tretirane BPC 157 $\mu\text{g ip}$. HE, povećanje 10x. Pokazuje se uredan nalaz tubularnih struktura. Nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni.*



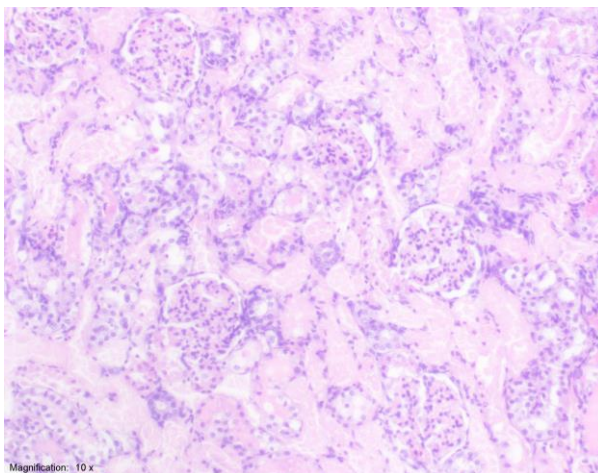
Slika 12. *PHD uzorak bubrega životinje tretirane BPC 157 $\mu\text{g po}$. HE, povećanje 10x. Pokazuje se uredan nalaz tubularnih struktura. Nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni.*



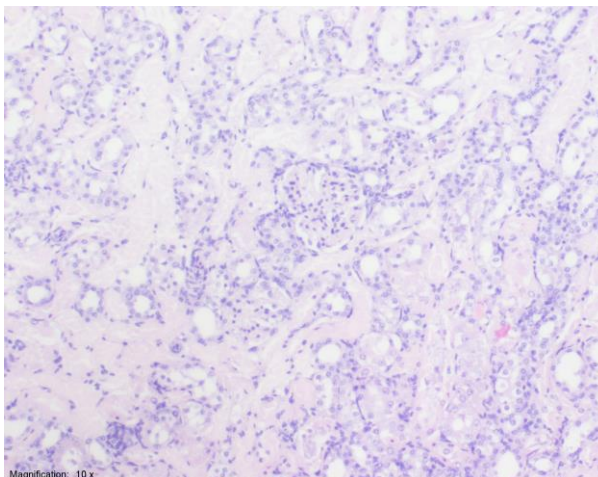
Slika 13. *PHD uzorak bubrega životinje tretirane BPC 157 $\mu\text{g po}$. HE, povećanje 10x. Pokazuje se uredan nalaz tubularnih struktura. Nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni.*



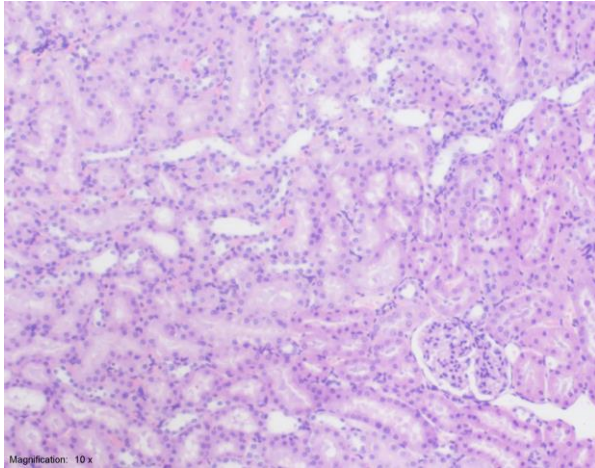
Slika 14. PHD uzorak bubrega kontrolne životinje. HE, povećanje 10x. Pokazuje se značajna tubularna nekroza s edemom intersticija, perivaskularnim edemom i infiltratima upalnih stanica, 75% ili više tubula u vidnom polju imaju promjene.



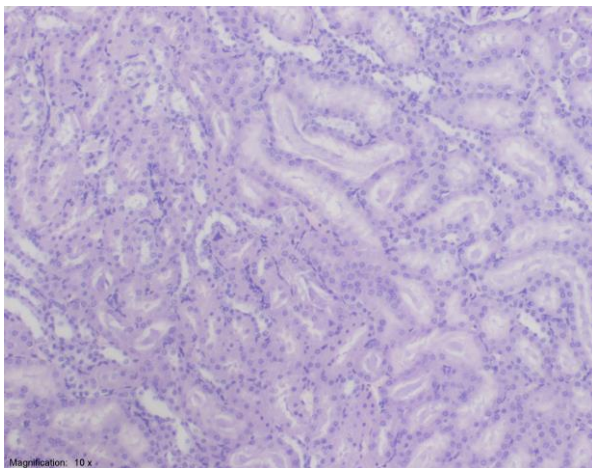
Slika 15. PHD uzorak bubrega životinje tretirane L-argininom. HE, povećanje 10x. Pokazuje se značajna tubularna nekroza s edemom intersticija, perivaskularnim edemom i infiltratima upalnih stanica, gotovo svi tubuli u vidnom polju imaju promjene.



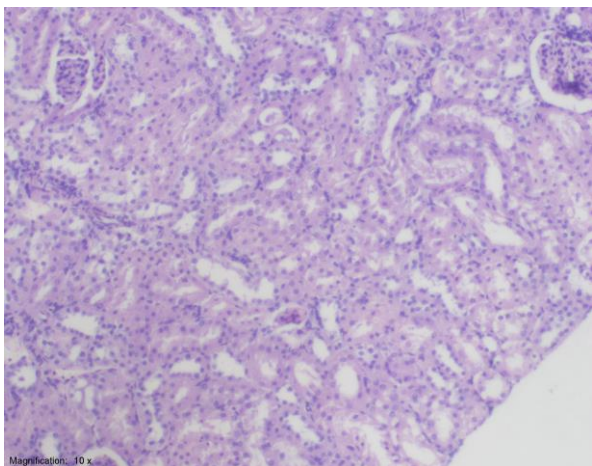
Slika 16. PHD uzorak bubrega životinje tretirane L-argininom i L-NAME. HE, povećanje 10x. Pokazuje se značajna tubularna nekroza s edemom intersticija, perivaskularnim edemom i infiltratima upalnih stanica, gotovo svi tubuli u vidnom polju imaju promjene.



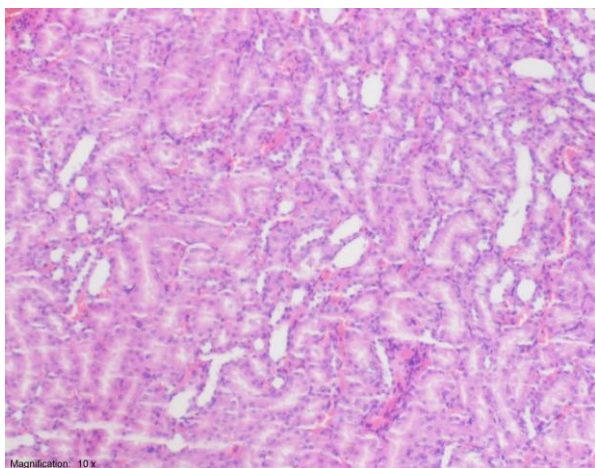
Slika 17. PHD uzorak bubrega životinje tretirane *L-NAME*. HE, povećanje 10x. Pokazuje se blaža tubularna nekroza s blažim edemom intersticija i hijaluronskim sadržajem intratubularno. 25-50% tubula u vidnom polju ima promjene.



Slika 18. PHD uzorak bubrega životinje tretirane *BPC 157* i *L-arginin*. HE, povećanje 10x. Pokazuje se blaža tubularna nekroza bez intersticijskog edema, manje od 25% tubula u vidnom polju ima promjene.



Slika 19. PHD uzorak bubrega životinje tretirane *BPC 157*, *L-NAME* i *L-arginin*. HE, povećanje 10x. Pokazuje se blaža tubularna nekroza bez intersticijskog edema, manje od 25% tubula u vidnom polju ima promjene.



Slika 20. PHD uzorak bubrega životinje tretirane BPC 157 i L-NAME. HE, povećanje 10x. Pokazuje se diskretan edem stanica tubula, promjene su vrlo blage, gotovo uredan nalaz.

Tablica 27 PhD nalaz						
Skupina ↓	PhD nalaz	0	1	2	3	4
→						
K1	G(ip)	0	0	0	0	10
K2	GFO(ip)	0	0	0	2	8
	G(ip) BPC μg(ip)	8	2	0	0	0
	G(ip) BPC ng(ip)	6	4	0	0	0
	G(ip) BPC μg(ip) LNAME	4	2	4	0	0
	G(ip) BPC ng(ip) LNAME	6	4	0	0	0
	G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip)	4	6	0	0	0
	G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip)	4	3	3	0	0
	G(ip) BPC μg(ip) Arg(ip) LNAME	6	4	0	0	0
	G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME	5	3	2	0	0
	G(ip) LNAME	0	1	2	2	5
	G(ip) Arg(ip)	0	0	2	3	5
	G(ip) Arg(ip) LNAME	0	0	0	4	6
	G(ip) BPC μg(po)	10	0	0	0	0
	G(ip) BPC μg(po) LNAME	7	1	2	0	0
	G(ip) BPC μg(po) Arg(ip)	7	3	0	0	0
	G(ip) BPC μg(po) Arg(ip) LNAME	7	3	0	0	0

Tablica 27: *Patohistološka analiza uzoraka.* Tablica prikazuje pet stupaca koji predstavljaju ocjene patologa od 0 do 4. Uredan nalaz bodovan je s „0“ (nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni), a izrazito teške promjene bodovane su s „4“ (gotovo svi tubuli u vidnom polju imaju promjene). Retke predstavlja broj životinja u skupini klasificirane po ocjeni.

Tablica 5 PhD nalaz						
Skupina ↓	PhD nalaz →	0	1	2	3	4
BPC		24	6	0	0	0
BPC+Arg		15	12	3	0	0
BPC+LNAME		17	7	6	0	0
BPC+Arg+LNAME		18	10	2	0	0
Arg		0	0	2	3	5
LNAME		0	1	2	2	5
Arg+LNAME		0	0	0	4	6
K		0	0	0	2	18

Tablica 28: *Patohistološka analiza uzoraka u alternativno grupiranih životinja.* Tablica prikazuje pet stupaca koji predstavljaju ocjene patologa od 0 do 4. Uredan nalaz bodovan je s „0“ (nije registrirano histopatoloških promjena, prikazuje se normalan tubularni epitel, stanice i nefroni), a izrazito teške promjene bodovane su s „4“ (gotovo svi tubuli u vidnom polju imaju promjene). Retke predstavlja broj životinja u skupini klasificirane po ocjeni.

5.6. Statistička analiza

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama																	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Diureza 0h																	
K1 G(ip) - 1		-	-	-			-	0,982	0,765	0,051	-	0,146	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2	-		-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3	-	-		-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4	-	-	-				-	-	-	0,106	-	0,286	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5																	
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6																	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7	-	-	-	-			-	-	-	-	0,274	-	0,416	-	0,706	0,701	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8	0,982	-	-	-			-	-	-	-	0,021	-	0,034	-	0,065	0,064	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9	0,765	-	-	-			-	-	-	-	0,015	-	0,025	-	0,047	0,047	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10	0,051	-	-	0,106			-	-	-	-	0,000	-	0,001	0,146	0,002	0,002	-
G(ip) LNAME - 11	-	-	-	-			0,274	0,021	0,015	0,000		0,002	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12	0,146	-	-	0,286			-	-	-	-	0,002		0,003	0,385	0,006	0,006	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13	-	-	-	-			0,416	0,034	0,025	0,001	-	0,003		-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) - 14	-	-	-	-			-	-	-	0,146	-	0,385	-		-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15	-	-	-	-			0,706	0,065	0,047	0,002	-	0,006	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16	-	-	-	-			0,701	0,064	0,047	0,002	-	0,006	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diureza 24h																	
K1 G(ip) - 1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,311	-
K2 GFO(ip) - 2	-		-	0,026	-	-	0,036	-	-	-	0,251	-	-	0,004	0,027	0,000	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,026	-	-	-	-	-	-	-	0,024	-	0,055	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,820	-	0,134	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	0,036	-	-	-		-	-	-	0,033	-	0,075	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,615	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,708	-	0,113	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	-	0,024	-	0,033	-	-		0,234	-	-	0,003	0,024	0,000	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	0,251	-	-	-		-	-	-	0,234	-	0,481	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	0,055	-	0,075	-	-		-	0,481	-	0,009	0,057	0,001	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	0,004	-	-	-	0,820	-	-	0,708	0,003	-	0,009	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,027	-	-	-	-	-	-	0,024	-	0,057	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			0,311	0,000	-	-	-	0,134	-	0,615	0,113	0,000	-	0,001	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diureza 48h																				
K1 G(ip) - 1				0,126	-	-	-	0,114	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			0,126		-	0,006	-	-	-	-	0,001	-	0,001	-	0,488	0,000	0,003	0,045	0,286	
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,006	-	-	-	0,005	-	0,311	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,236	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			0,114	-	-	0,005	-	-	-	-	0,001	-	0,001	-	0,447	0,000	0,003	0,041	0,261	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	0,311	-	-	-	-	0,104	-	0,068	-	-	0,006	0,185	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,001	-	-	-	0,001	-	0,104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,392	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	0,001	-	-	-	0,001	-	0,068	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,150	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	0,488	-	-	-	0,447	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	0,000	-	-	0,236	0,000	-	0,006	-	0,392	-	0,150	-		-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,003	-	-	-	0,003	-	0,185	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	0,045	-	-	-	0,041	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	0,286	-	-	-	0,261	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Diureza 72h																				
K1 G(ip) - 1				0,100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			0,100		0,000	0,000	0,025	-	-	0,091	0,464	-	0,132	-	-	0,001	0,008	0,000	0,585	
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	0,000		-	-	0,154	0,556	-	-	0,024	-	0,022	0,002	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,000	-		-	0,544	-	-	-	0,102	-	0,094	0,009	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	0,025	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,536	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	0,154	0,544	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,353	-	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	-	0,556	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	0,091	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,464	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	0,024	0,102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,320	-	0,062	-	
G(ip) LNAME - 11			-	0,132	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,022	0,094	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,297	-	0,057	-	
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,002	0,009	0,536	-	-	-	-	-	-	-	-	0,034	0,220	0,005	-	
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	0,001	-	-	-	-	-	-	-	0,320	-	0,297	0,034	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,220	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	0,000	-	-	-	0,353	-	-	-	0,062	-	0,057	0,005	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	0,585	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Diureza 96h																				
K1 G(ip) - 1				-	0,004	-	-	-	0,597	-	-	0,395	-	-	-	-	-	0,046	-	
K2 GFO(ip) - 2			-		0,000	0,006	0,025	0,086	0,001	0,054	0,718	0,001	-	-	-	0,018	0,637	0,000	0,008	
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,004	0,000		-	-	-	-	-	0,400	-	0,056	0,001	0,006	-	0,454	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,831	-	-	-	-	-	

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	0,025	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	0,086	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,597	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,265	0,792	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	0,054	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,718	0,400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			0,395	0,001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,170	0,529	-	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	0,056	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,419	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,001	0,831	-	-	0,265	-	-	0,170	-	-	-	-	-	-	0,017	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,006	-	-	-	0,792	-	-	0,529	-	-	-	-	-	-	0,064	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	0,018	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,637	0,454	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			0,046	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,419	0,017	0,064	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	0,008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diureza 120h																				
K1 G(ip) - 1				-	0,129	-	-	-	-	-	-	0,055	-	-	0,897	-	0,028	0,034	0,010	
K2 GFO(ip) - 2			-		0,014	0,825	-	-	-	0,514	0,348	0,005	0,188	-	0,130	-	0,002	0,003	0,001	
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,129	0,014		-	-	-	-	-	-	-	-	0,007	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,825	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,488	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,825	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,754	-	-	-	-	0,438	0,517	0,186	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,967	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	0,514	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,297	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,348	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,197	-	-	-	-	-	
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			0,055	0,005	-	-	-	0,754	-	-	-	-	-	0,002	-	-	-	-	-	
G(ip) LNAME - 11			-	0,188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,104	-	-	-	-	-	
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,007	0,488	0,825	-	0,967	0,297	0,197	0,002	0,104	-	0,071	-	0,001	0,001	0,000	
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			0,897	0,130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,071	-	-	-	-	-	

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			0,028	0,002	-	-	-	0,438	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			0,034	0,003	-	-	-	0,517	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			0,010	0,001	-	-	-	0,186	-	-	-	-	-	-	0,000	-	-	-	-	-
Diureza 144h																				
K1 G(ip) - 1			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-	-	-	-	-	0,115	0,121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	-	-	-	0,259	0,006	0,006	0,308	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	0,259	-	-	-	-	-	-	-	-	0,803	-	0,008	-	0,017	0,162	0,400
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	0,115	0,006	-	-	-	-	0,249	-	-	-	0,026	0,313	0,000	-	0,000	0,003	0,010
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	0,121	0,006	-	-	-	-	0,261	-	-	-	0,027	0,327	0,000	-	0,000	0,003	0,011
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	0,308	-	-	-	-	-	-	-	-	0,941	-	0,009	-	0,022	0,194	0,474
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	-	-	-	-	0,249	0,261	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	-	-	0,803	0,026	0,027	0,941	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	-	-	0,313	0,327	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	-	-	0,008	0,000	0,000	0,009	-	-	-	-	-	-	0,568	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,568	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	-	-	-	0,017	0,000	0,000	0,022	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	-	-	0,162	0,003	0,003	0,194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	0,400	0,010	0,011	0,474	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diureza 168h																				
K1 G(ip) - 1			-	-	-	-	0,033	0,020	0,006	0,211	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-	-	0,425	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	-	-	-	-	-	-	0,831	0,010	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	-	-	-	0,182	0,117	0,041	0,928	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,425	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,350	-	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg (ip) LNAME - 5			0,033	0,000	0,182	-		-	-	-	-	0,279		0,071	0,000	0,000	-	-	-	0,069
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			0,020	0,000	0,117	-	-		-	-	-	0,182		0,044	0,000	0,000	-	-	-	0,043
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,006	0,000	0,041	-	-	-		-	-	0,066		0,014	0,000	0,000	0,451	0,703	-	0,014
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			0,211	0,000	0,928	-	-	-		-	-			0,409	0,003	0,000	-	-	-	0,398
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,033	-	-	-	-		-	-			-	0,140	0,026	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	-	-	0,279	0,182	0,066	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	-	-	0,071	0,044	0,014	0,409	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	-	0,000	0,000	0,000	0,003	0,140			-	-	-	-	-	0,047	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	-	0,350	0,000	0,000	0,000	0,000	0,026			-	-	-	-	0,693	0,008	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	0,451	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,831	-	-	-	-	0,703	-	-			-	-	0,693	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	0,010	-	-	-	-	-	-	-			-	0,047	0,008	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	0,069	0,043	0,014	0,398	-			-	-	-	-	-	-	-
Srednja težina bubrega																				
K1 G(ip) - 1				-	-	0,275	0,074	0,337	0,045	-	0,001			-	-	-	-	0,001	0,146	-
K2 GFO(ip) - 2			-		0,213	0,021	0,004	0,027	0,002	0,792	0,000	0,615	0,158	-	-	0,593	0,000	0,010	0,315	
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	0,213		-	-	-	-	-	-			-	0,744	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			0,275	0,021	-	-	-	-	-	-	-			-	0,091	0,185	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			0,074	0,004	-	-	-	-	-	-	-			-	0,022	0,048	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			0,337	0,027	-	-	-	-	-	-	-			-	0,113	0,229	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,045	0,002	-	-	-	-	-	-	-			-	0,013	0,029	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	0,792	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			0,001	0,000	-	-	-	-	-	-	-			-	0,000	0,001	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	0,615	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	0,158	-	-	-	-	-	-	-			-	0,568	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,744	0,091	0,022	0,113	0,013	-	0,000			0,568	-	-	-	0,000	0,046	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	-	0,185	0,048	0,229	0,029	-	0,001			-	-	-	-	0,000	0,096	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	0,593	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			0,001	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,000	0,000	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			0,146	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,046	0,096	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	0,315	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ureja																				
K1 G(ip) - 1			-	0,016	-	-	0,438	0,623	-	0,022	-	-	-	-	-	-	0,377	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-	0,377	-	-	-	-	-	0,485	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,016	0,377	-	-	0,184	-	-	0,348	-	0,003	-	0,007	0,000	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,380	-	0,728	0,027	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	0,184	-	-	-	-	0,239	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			0,438	-	-	-	-	-	-	-	-	0,116	-	0,238	0,007	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,623	-	-	-	-	-	-	-	-	0,172	-	0,345	0,011	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	0,348	-	-	-	-	-	0,447	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			0,022	0,485	-	-	0,239	-	-	0,447	-	0,004	-	0,010	0,000	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	0,003	0,380	-	0,116	0,172	-	0,004	-	-	-	-	0,099	0,361	-	0,461	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,238	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,007	0,728	-	0,238	0,345	-	0,010	-	-	-	-	0,203	0,693	-	0,872	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,000	0,027	-	0,007	0,011	-	0,000	-	0,238	-	-	0,005	0,026	0,441	0,034	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			0,377	-	-	-	-	-	-	-	-	0,099	-	0,203	0,005	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,361	-	0,693	0,026	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,441	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,461	-	0,872	0,034	-	-	-	-	-
Kreatinin																				
K1 G(ip) - 1			-	0,159	-	-	-	0,022	-	0,034	-	-	-	-	-	0,038	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-	0,090	-	-	-	0,011	-	0,018	-	-	-	-	-	0,020	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,159	0,090	-	-	0,623	-	-	-	-	0,152	-	0,015	0,000	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,283	0,009	-	-	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	0,623	-		-	0,104	-	0,158		-	-	-	-	0,171	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	0,152	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,022	0,011	-	-	0,104	-		0,301	-	0,021		-	0,002	0,000	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	-	-	-	0,301		0,441		-	-	-	-	0,474	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			0,034	0,018	-	-	0,158	-	-	0,441		0,033		-	0,003	0,000	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	0,152	-	-	-	0,021	-	0,033		-	-	-	-	0,036	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	0,441	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,015	0,283	-	-	0,002	-	0,003		-	-	-	-	0,003	-	0,679	0,403
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,000	0,009	-	0,152	0,000	-	0,000		-	0,441	-	-	0,000	0,115	0,027	0,014
G(ip) BPC µg(po) - 14			0,038	0,020	-	-	0,171	-	-	0,474	-	0,036		-	0,003	0,000	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	0,115	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	0,679	0,027	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	0,403	0,014	-	-	-	-
Kalij																				
K1 G(ip) - 1				-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,744		-	-	0,018	-	0,055	0,053	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,342		-	-	0,007	-	0,021	0,020	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	0,744	-	0,342	-	-	-	-	-		-	-	-	-	0,383	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	0,018	-	0,007	-	-	-	-	-		-	-	-	-	0,008	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,383		-	-	0,008		0,024	0,023	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,055	-	0,021	-	-	-	-	-			-	-	-	0,024		-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	0,053	-	0,020	-	-	-	-	-			-	-	-	0,023		-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
Natrij																				
K1 G(ip) - 1			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-		0,255	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	0,255		0,684	-	-	-	-	-			0,485	-	0,786	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	-	0,684		-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	0,485	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,786	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	-	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-
Kalcij																				
K1 G(ip) - 1				0,294	-	-	-	-	-	-	-			-	-	0,093	-	-	-	-
K2 GFO(ip) - 2			0,294		0,000	0,001	0,001	-	0,315	0,000	0,125	0,049		-	-	-	-	0,112	-	-
G(ip) BPC µg(ip) - 3			-	0,000		-	-	0,191	-	-	-			0,467	0,213	0,000	0,001	-	0,464	0,168
G(ip) BPC ng(ip) - 4			-	0,001	-	-	-	-	-	-	-			-	-	0,000	0,015	-	-	-

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	0,001	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,000	0,028	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			-	-	0,191	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	0,315	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,100	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	0,000	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,000	0,006	-	-	0,934
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			-	0,125	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,037	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	0,049	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,013	0,585	-	-	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	0,467	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,831	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,213	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			0,093	-	0,000	0,000	0,000	-	0,100	0,000	0,037	0,013	0,831	-	-	-	-	0,033	0,837	-
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	0,001	0,015	0,028	-	-	0,006	-	0,585	-	-	-	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	0,112	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,033	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	0,464	-	-		-	-	-	-	-	-	-	0,837	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	-	0,168	-	-		-	0,934	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Magnezij																				
K1 G(ip) - 1				-	0,007	0,046	-	-	-	-	0,467	-	0,227	-	-	-	-	0,041	-	-
K2 GFO(ip) - 2			-		0,001	0,005	-	0,241	0,186	-	0,072	-	0,031	-	-	-	-	0,004	-	0,464
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,007	0,001		-	0,441	-	-	0,051	-	0,079	-	0,096	0,000	-	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			0,046	0,005	-		-	-	-	0,277	-	0,409	-	0,488	0,000	-	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			-	-	0,441	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,921	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 6			-	0,241	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,004	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			-	0,186	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,003	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 8			-	-	0,051	0,277	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,251	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			0,467	0,072	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	0,079	0,409	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,372	-	-
G(ip) LNAME - 11			0,227	0,031	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	0,000	-	-	-	-
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,096	0,488	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,444	-	-
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,000	0,000	0,921	0,004	0,003	-	0,001	-	0,000	-	-	0,105	0,000	0,051	0,009	

Tablica 29 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
G(ip) BPC µg(po) - 14			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,105		-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			0,041	0,004	-	-	-	-	-	0,251	-	0,372	-	0,444	0,000	-		-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,051		-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			-	0,464	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009		-
Klinički izgled																		
K1 G(ip) - 1			-	0,015	0,044	0,723	0,015	0,044	-	0,723	-	-	-	-	-	0,015	-	0,015
K2 GFO(ip) - 2			-	0,007	0,022	0,409	0,007	0,022	-	0,409	-	-	-	-	-	0,007	-	0,007
G(ip) BPC µg(ip) - 3			0,015	0,007	-	-	-	-	-	-	0,536	0,005	0,005	0,001	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) - 4			0,044	0,022	-	-	-	-	-	-	-	0,015	0,015	0,003	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) LNAME - 5			0,723	0,409	-	-	-	-	-	-	-	0,304	0,304	0,086	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) LNAME - 6			0,015	0,007	-	-	-	-	-	-	0,536	0,005	0,005	0,001	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) - 7			0,044	0,022	-	-	-	-	-	-	-	0,015	0,015	0,003	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) - 8			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,947	-	-	-	-
G(ip) BPC µg(ip) Arg(ip) LNAME - 9			0,723	0,409	-	-	-	-	-	-	-	0,304	0,304	0,086	-	-	-	-
G(ip) BPC ng(ip) Arg(ip) LNAME - 10			-	-	0,536	-	-	0,536	-	-	-	-	-	-	0,536	-	0,536	-
G(ip) LNAME - 11			-	-	0,005	0,015	0,304	0,005	0,015	-	0,304	-	-	-	0,005	0,947	0,005	0,223
G(ip) Arg(ip) - 12			-	-	0,005	0,015	0,304	0,005	0,015	-	0,304	-	-	-	0,005	0,947	0,005	0,223
G(ip) Arg(ip) LNAME - 13			-	-	0,001	0,003	0,086	0,001	0,003	0,947	0,086	-	-	-	0,001	0,304	0,001	0,062
G(ip) BPC µg(po) - 14			0,015	0,007	-	-	-	-	-	-	-	0,536	0,005	0,005	0,001	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) LNAME - 15			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,947	0,947	0,304	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) - 16			0,015	0,007	-	-	-	-	-	-	-	0,536	0,005	0,005	0,001	-	-	-
G(ip) BPC µg(po) Arg(ip) LNAME - 17			0,544	0,304	-	-	-	-	-	-	-	-	0,223	0,223	0,062	-	-	-

Tablica 29: Statistička značajnost razlika među skupinama. U tablicama se nalaze p-vrijednosti testiranja razlika između skupina. Vrijednosti su označene bojom od najnižih i statistički najviše značajnih (crveno), do najviših vrijednosti bez statističke značajnosti (zeleno). Oznaka „-“, u tablici označava da su statističke razlike među skupinama bile gotovo nepostojeće ($p \approx 1$).

Tablica 30 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Diureza 0h								
BPC - 1		-	-	0,047	0,031	-	-	-
BPC+Arg - 2	-		0,288	-	0,424	0,096	0,156	-
BPC+LNAME - 3	-	0,288		0,002	0,001	-	-	-
BPC+Arg+LNAME - 4	0,047	-	0,002		-	0,000	0,001	0,091
Arg - 5	0,031	0,424	0,001	-		0,000	0,001	0,042
LNAME - 6	-	0,096	-	0,000	0,000		-	-
Arg+LNAME - 7	-	0,156	-	0,001	0,001	-		-
K - 8	-	-	-	0,091	0,042	-	-	
Diureza 24h								
BPC - 1		-	-	0,007	0,003	-	-	0,002
BPC+Arg - 2	-		-	0,006	0,002	-	-	0,002
BPC+LNAME - 3	-	-		0,695	0,099	-	-	0,201
BPC+Arg+LNAME - 4	0,007	0,006	0,695		-	0,702	-	-
Arg - 5	0,003	0,002	0,099	-		0,099	-	-
LNAME - 6	-	-	-	0,702	0,099		-	0,246
Arg+LNAME - 7	-	-	-	-	-	-		-
K - 8	0,002	0,002	0,201	-	-	0,246	-	
Diureza 48h								
BPC		0,198	0,034	-	0,310	-	-	0,012
BPC+Arg	0,198		-	-	-	0,247	-	-
BPC+LNAME	0,034	-		-	-	0,076	-	-
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		-	-	-	0,459
Arg	0,310	-	-	-		0,220	-	-
LNAME	-	0,247	0,076	-	0,220		-	0,027
Arg+LNAME	-	-	-	-	-	-		-
K	0,012	-	-	0,459	-	0,027	-	
Diureza 72h								
BPC		0,732	0,136	0,001	0,001	-	0,000	0,000
BPC+Arg	0,732		-	-	0,259	-	0,024	0,095
BPC+LNAME	0,136	-		-	0,809	-	0,098	0,458

Tablica 30 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama								
	1	2	3	4	5	6	7	8
BPC+Arg+LNAME	0,001	-	-		-	-	-	-
Arg	0,001	0,259	0,809	-		-	-	-
LNAME	-	-	-	-	-		0,406	-
Arg+LNAME	0,000	0,024	0,098	-	-	0,406		-
K	0,000	0,095	0,458	-	-	-	-	
Diureza 96h								
BPC		-	0,926	-	0,002	0,121	0,013	0,000
BPC+Arg	-		-	-	0,005	0,224	0,026	0,000
BPC+LNAME	0,926	-		-	0,434	-	-	0,003
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		0,076	-	0,277	0,000
Arg	0,002	0,005	0,434	0,076		-	-	-
LNAME	0,121	0,224	-	-	-		-	-
Arg+LNAME	0,013	0,026	-	0,277	-	-		-
K	0,000	0,000	0,003	0,000	-	-	-	
Diureza 120h								
BPC		-	-	-	0,004	-	-	0,001
BPC+Arg	-		-	-	0,001	-	-	0,000
BPC+LNAME	-	-		-	0,010	-	-	0,004
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		0,000	-	-	0,000
Arg	0,004	0,001	0,010	0,000		0,021	0,015	-
LNAME	-	-	-	-	0,021		-	0,022
Arg+LNAME	-	-	-	-	0,015	-		0,014
K	0,001	0,000	0,004	0,000	-	0,022	0,014	
Diureza 144h								
BPC		-	-	-	-	-	0,241	-
BPC+Arg	-		-	0,449	-	0,432	0,002	-
BPC+LNAME	-	-		0,985	-	0,761	0,005	-
BPC+Arg+LNAME	-	0,449	0,985		-	-	0,628	-
Arg	-	-	-	-		-	-	-
LNAME	-	0,432	0,761	-	-		-	-
Arg+LNAME	0,241	0,002	0,005	0,628	-	-		0,435

Tablica 30 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama								
	1	2	3	4	5	6	7	8
K	-	-	-	-	-	-	0,435	
Diureza 168h								
BPC		0,003	0,031	-	0,276	-	0,050	0,178
BPC+Arg	0,003		-	0,003	0,000	0,005	0,000	0,000
BPC+LNAME	0,031	-		0,025	0,000	0,025	0,000	0,000
BPC+Arg+LNAME	-	0,003	0,025		0,314	-	0,058	0,211
Arg	0,276	0,000	0,000	0,314		-	-	-
LNAME	-	0,005	0,025	-	-		-	-
Arg+LNAME	0,050	0,000	0,000	0,058	-	-		-
K	0,178	0,000	0,000	0,211	-	-	-	
Srednja težina bubrega								
BPC		-	-	-	0,012	-	0,028	0,000
BPC+Arg	-		-	-	0,002	-	0,004	0,000
BPC+LNAME	-	-		-	0,000	-	0,000	0,000
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		0,002	-	0,005	0,000
Arg	0,012	0,002	0,000	0,002		0,117	-	-
LNAME	-	-	-	-	0,117		0,216	0,023
Arg+LNAME	0,028	0,004	0,000	0,005	-	0,216		-
K	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,023	-	
Ureja								
BPC		0,634	-	-	0,001	-	0,000	0,001
BPC+Arg	0,634		-	-	0,379	-	0,008	0,836
BPC+LNAME	-	-		-	0,161	-	0,003	0,310
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		0,228	-	0,004	0,466
Arg	0,001	0,379	0,161	0,228		0,785	-	-
LNAME	-	-	-	-	0,785		0,049	-
Arg+LNAME	0,000	0,008	0,003	0,004	-	0,049		-
K	0,001	0,836	0,310	0,466	-	-	-	
Kreatinin								
BPC		-	0,052	-	0,000	-	0,000	0,000
BPC+Arg	-		-	-	0,014	-	0,000	0,010

Tablica 30 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama								
	1	2	3	4	5	6	7	8
BPC+LNAME	0,052	-	-	-	0,500	-	0,014	0,850
BPC+Arg+LNAME	-	-	-	-	0,038	-	0,000	0,036
Arg	0,000	0,014	0,500	0,038	-	-	-	-
LNAME	-	-	-	-	-	-	0,091	-
Arg+LNAME	0,000	0,000	0,014	0,000	-	0,091	-	-
K	0,000	0,010	0,850	0,036	-	-	-	-
Kalij								
BPC	-	0,002	0,002	0,002	-	0,350	0,000	-
BPC+Arg	0,002	-	-	-	-	-	-	0,235
BPC+LNAME	0,002	-	-	-	-	-	-	0,224
BPC+Arg+LNAME	0,002	-	-	-	-	-	-	0,295
Arg	-	-	-	-	-	-	0,808	-
LNAME	0,350	-	-	-	-	-	-	-
Arg+LNAME	0,000	-	-	-	0,808	-	-	0,018
K	-	0,235	0,224	0,295	-	-	0,018	-
Natrij								
BPC	-	-	-	-	-	-	-	-
BPC+Arg	-	-	-	-	-	-	-	-
BPC+LNAME	-	-	-	-	-	-	-	-
BPC+Arg+LNAME	-	-	-	-	-	-	-	-
Arg	-	-	-	-	-	-	-	-
LNAME	-	-	-	-	-	-	-	-
Arg+LNAME	-	-	-	-	-	-	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-
Kalcij								
BPC	-	-	-	-	-	-	0,000	0,052
BPC+Arg	-	-	-	-	-	-	0,000	0,096
BPC+LNAME	-	-	-	-	-	-	0,000	0,171
BPC+Arg+LNAME	-	-	-	-	-	-	0,001	0,656
Arg	-	-	-	-	-	-	0,342	-
LNAME	-	-	-	-	-	-	0,171	-

Tablica 30 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama								
	1	2	3	4	5	6	7	8
Arg+LNAME	0,000	0,000	0,000	0,001	0,342	0,171		0,882
K	0,052	0,096	0,171	0,656	-	-	0,882	
Magnezij								
BPC		0,371	-	-	0,071	-	0,000	0,000
BPC+Arg	0,371		-	-	-	-	0,001	0,061
BPC+LNAME	-	-		-	0,856	-	0,000	0,001
BPC+Arg+LNAME	-	-	-		-	-	0,000	0,014
Arg	0,071	-	0,856	-		0,377	0,659	-
LNAME	-	-	-	-	0,377		0,000	0,002
Arg+LNAME	0,000	0,001	0,000	0,000	0,659	0,000		-
K	0,000	0,061	0,001	0,014	-	0,002	-	
Klinički izgled								
BPC		-	-	0,192	0,000	0,000	0,000	0,000
BPC+Arg	-		-	-	0,001	0,001	0,000	0,000
BPC+LNAME	-	-		-	0,001	0,001	0,000	0,000
BPC+Arg+LNAME	0,192	-	-		0,065	0,065	0,014	0,010
Arg	0,000	0,001	0,001	0,065		-	-	-
LNAME	0,000	0,001	0,001	0,065	-		-	-
Arg+LNAME	0,000	0,000	0,000	0,014	-	-		-
K	0,000	0,000	0,000	0,010	-	-	-	

Tablica 30: Statistička značajnost razlika među skupinama u alternativno grupiranim skupinama životinja. U tablicama se nalaze p-vrijednosti testiranja razlika između skupina. Vrijednosti su označene bojom od najnižih i statistički najviše značajnih (crveno), do najviših vrijednosti bez statističke značajnosti (zeleno). Oznaka „-“, u tablici označava da su statističke razlike među skupinama bile gotovo nepostojeće ($p \approx 1$).

Tablica 31 Statistička značajnost razlika među promatranim skupinama PHD								
	1	2	3	4	5	6	7	8
PhD								
BPC - 1		-	-	-	0,000	0,000	0,000	0,000
BPC+Arg - 2	-		-	-	0,002	0,004	0,001	0,000
BPC+LNAME - 3	-	-		-	0,001	0,003	0,000	0,000
BPC+Arg+LNAME - 4	-	-	-		0,000	0,001	0,000	0,000
Arg - 5	0,000	0,002	0,001	0,000		-	-	-
LNAME - 6	0,000	0,004	0,003	0,001	-		-	-
Arg+LNAME - 7	0,000	0,001	0,000	0,000	-	-		-
K - 8	0,000	0,000	0,000	0,000	-	-	-	

Tablica 31: Statistička značajnost razlika među skupinama PHD nalaza u alternativno grupiranim skupinama životinja. U tablicama se nalaze p-vrijednosti testiranja razlika između skupina. Vrijednosti su označene bojom od najnižih i statistički najviše značajnih (crveno), do najviših vrijednosti bez statističke značajnosti (zeleno). Oznaka „-„ u tablici označava da su statističke razlike među skupinama bile gotovo nepostojeće ($p \approx 1$).

6. RASPRAVA

AOB predstavlja značajan klinički entitet čije liječenje katkada ovisi isključivo o nadomjesnoj bubrežnoj funkciji uz i dalje neadekvatne lijekove koji bi direktno djelovali na noksu. S obzirom na navedeno, prijeko su potrebna daljnja znanstvena istraživanja koja bi rezultirala pronalaženjem agensa koje bi bio siguran u svojoj primjeni i djelovao direktno na oštećenje, što bi u konačnici smanjilo ovisnost o odnosu nadomjesnog bubrežnog liječenja i vremenu spontanog oporavka AOB nakon uklanjanja uzroka. U ovom je istraživanju predložen pentadekapeptid BPC 157, s karakteristikama drukčijim od drugih peptida jer ne treba biti primijenjen uz nosač [48,107-108]. Riječ je o peptidu stabilnom u želučanom soku i bioraspoloživosti neovisnoj o načinu primjene [48] dok letalne i toksične doze nisu zabilježene [28]. U brojnim su ranijim istraživanjima dokazani protektivni učinci BPC 157 na različite organske sustave tijekom različitih mehanizama ozljede kao i njegov citoprotektivan/adaptivno citoprotektivan učinak na različita tkiva i organe [29-40,48,66,118-120,122,125-131]. BPC 157 pokazao se i djelotvornim u ciklofosfamidskom hemoragijskom cistitisu [136], ali i smanjenju prezentacije i parametara nefrotskog sindroma uz praktički uredan patohistološki nalaz [135], a protektivan učinak BPC 157 u ishemijsko reperfuzijskom oštećenju bubrega dokazao je i Filipović [1]. Revijalnim člankom Sikirić u izravnu svezu dovodi BPC 157 s učinkom na NO sustav [70], što kasnije prate i druga istraživanja proizašla iz navedenog laboratorija [31, 136].

S obzirom da se u organizmu nalaze tri izoforme NO sintetaze, a u bubregu prvenstveno iNOS i eNOS čija je ekspresija varijabilna, za očekivati je kako je nastanak akutne tubularne nekroze u uskoj interakciji s NO sustavom. Tako je eNOS u stanjima bez nokse povezana s blagotvornim učincima poput vazodilatacije i regulacije krvnog tlaka te vazoprotektivnim i antisklerotičnim učincima. Aktivnost iNOS pojačava se u stanjima nokse, čiju ekspresiju dodatno mogu potaknuti i aminoglikozidi, dok je njen glavni proizvod reaktivni NO uz koji se vezuje velik dio nastale tubularne nekroze uz dodatno oštećenje tkiva [93]. Učinak L-arginina prvenstveno se odnosi na eNOS jer kao donator dušične skupine dodatno potiče vazodilataciju i oksigenaciju tkiva, a time smanjuje oštećenje u hipoksiji [1]. L-NAMA je neselektivni inhibitor NO sintetaze, stoga se njegov učinak u stanjima bez nokse prvenstveno vezuje uz inhibiciju eNOS i povezane negativne učinke [1]. Već je ranije dokazano kako je učinak povećane produkcije NO pod utjecajem BPC 157 i neovisan je o je L-argininu i nije ga moguće blokirati s L-NAMA [1,29,31,43,70,114,136]. Navedeno se može objasniti

činjenicom da L-NAME inhibira eNOS u kompeticiji s L-argininom uz moguću kompeticiju s BPC-om 157 putem nerazjašnjenog mehanizma [1] jer kod samostalne primjene oba iniciraju sintezu NO, međutim kod zajedničke primjene pentadekapeptida BPC 157 i L-arginina nije zabilježen dodatni protekcijski učinak. Dokazano je kako BPC 157 dodatno inhibira aktivnost eNOS kada je L-arginin primjenjen u kombinaciji s L-NAME [31], te je također dokazano kako BPC 157 ipak ima drukčiji učinak na NO od učinka L-arginina [31]. Sikirić je dokazao kako BPC 157 posjeduje antioksidativna svojstva jer antagonizira jetrena i moždana oštećenja izazvana slobodnim radikalima [118-120] te da može prekinuti djelovanje proinflamatornih i protrombotičkih medijatora [33, 87] što se može dovesti u vezu s protektivnim učinkom na akutnu tubularnu nekrozu izazvanu gentamicinom. Dokazani antiaritmijski učinak BPC 157 u životinjskom modelu hiperkalijemije [87] može objasniti povećane vrijednosti kalija u BPC 157 tretiranih životinja, dok se povećana smrtnost ostalih životinja može smatrati kroz prizmu izostanka antiaritmijskog učinka BPC 157 u hiperkalijemiji i hipermagnezijemiji. Nemogućnost postmortem dokazivanja vrijednosti magnezija i kalija u preminulih životinja može govoriti u prilog i nemogućnosti detekcije hiperkalijemije i hipermagnezijemije u životinja koje nisu podvrgnute biokemijskoj analizi.

Kontradiktorni literaturni podatci ne dovode u jasnu i nepobitnu svezu učinke L-NAME, L-arginina i njihove zajedničke kombinacije s protekcijom ili pogoršanjem ozljede u gentamicinskom AOB. Rivas-Cabanero 1997., Can 2000. i Ghaznavi 2005. u svojim istraživanjima gentamicinske nefrotoksičnosti tvrde kako L-NAME u istodobnoj primjeni s gentamicinom uzrokuje pogoršanje parametara bubrežne funkcije snažnije nego sam gentamicin [26,55,134]. U slično konstruiranim istraživanjima Pessoa 2005. godine dokazuje kako L-NAME u pretretmanu uzrokuje poboljšanje bubrežne funkcije kod aminoglikozidne nefrotoksičnosti [139], Martínez-Salgado 2002. tvrdi kako primjena L-NAME kod AOB uzrokovane gentamicinom smanjuje stvaranje radikala [68], a Ghaznavi 2007. godine pobija svoje ranije tvrdnje i dokazuje kako L-NAME nema značajnijeg učinka na razvoj AOB u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti [53] kao i Seçilmiş 2002. godine [95]. U svojim istraživanjima Rivas-Cabanero 1997., Can 2000. i Ghaznavi 2005. tvrde kako L-arginin uzrokuje poboljšanje parametara bubrežne funkcije u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti [26,55,134]. Valdivielso 1997. tvrdi kako akutna primjena L-arginina ne modificira renalnu funkciju u AOB uzrokovanom aminoglikozidima [135] dok Can tvrdi kako istodobna primjena L-NAME i L-arginina nema značajnije razlike na parametre bubrežne funkcije u aminoglikozidnoj nefrotoksičnosti [26]. Literaturni podatci pokazuju kako samo selektivni

inhibitor iNOS, L-NIL (N-imino-ethyl lysine) prevenira gentamicinom induciranu nefrotoksičnost [53], ali navedeni agens nije primjenjivan u ovom istraživanju. Sve se navedeno može objasniti pojačanom indukcijom iNOS i smanjenjem indukcije eNOS koja se javlja u gentamicinskom AOB [56,82], ali i blokadom produkcije NO radikala primjenom L-NAME [56,95]. Osim što ovim istraživanjem nije dokazan protektivan učinak L-arginina u gentamicinom induciranom AOB, istraživanjem je dokazano kako zajednička primjena L-arginina i L-NAME uzrokuje dodatna oštećenja u gentamicinskoj AOB što je vidljivo iz kliničke slike, vrijednosti kreatinina i magnezija te patohistološki. Iako se čini kako primjena L-NAME djeluje protektivno, isto nije zabilježeno u kliničkoj ni PHD valorizaciji, čemu u prilog govori i velika smrtnost životinja u skupini životinja tretiranoj s L-NAME.

Dobiveni rezultati nakon induciranoj AOB uzrokovanog visokom dozom gentamicina nužnom za brzo postizanja kortikalne nekroze [5,52,57,58,134] govore u prilog razvoja poliuričnog AOB s kliničkom slikom dijabetesa insipidusa [5,57,58]. Poliurična faza se u životinja koje nisu tretirane pentadekapeptidom BPC 157 javlja 72 sata nakon početka pokusa, a svoj vrhunac doseže nakon 120 sati od početka pokusa, nakon čega nastupa oligurična faza. U životinja tretiranih BPC 157 120 sati nakon početka pokusa javlja se pojačana diureza koja ne daje kliničku sliku dijabetesa insipidusa, dok se oligurična faza uopće ne javlja u životinja tretiranih pentadekapeptidom BPC 157. Osim verificirane poliurije jedan od kliničkih parametara AOB jest i klinička slika životinja. Razvijeni periferni edemi njuške, lica, šape, skrotalne regije, praćenih adinamijom u izraženiji su u skupina životinja koje nisu tretirane BPC 157, dok su iste promjene bile statistički manje evidentirane u životinja koje su bile tretirane BPC 157 neovisno o dozi i načinu primjene. Primjena L-arginina i L-NAME, pojedinačno ili zajednički također je uzrokovala lošiju kliničku prezentaciju, bez statistički značajnih razlika između samih skupina. U AOB induciranom ovim pokusom nismo zamijetili promjena vrijednosti natrija, dok su vrijednosti kalija bile veće u životinja tretiranih BPC 157. Iako literaturni podatci pokazuju kako hipermagnezijemija prati hiperkalijemiju [137], u ovom istraživanju isto nije zabilježeno, jer se hipermagnezijemija, za razliku od kalija, prati u svim skupinama životinja koje nisu tretirane s BPC 157, iako statistički značajna samo u kontrolnoj skupini životinja i skupini tretiranoj s L-NAME i L-argininom. Literaturni podatci [138] pokazuju kako je hiperkalcemija očekivan nalaz u AOB, u pokusu je zabilježena u kontrolnoj skupini životinja, ali bez statističke značajnosti, dok je statistički značajna hiperkalcemija zabilježena samo u skupini životinja tretiranom sa zajednički L-NAME i L-argininom. Elektrolitski disbalans koji

se javlja u AOB u ovom pokusu nije evidentiran u svim kontrolnim skupinama, jedno od mogućih objašnjenja jest i trajanje pokusa od 7 dana i vremenski period u kojem se nije stigao razviti očekivani elektrolitski disbalans. Iako je prosječna vrijednost kalija u BPC 157 tretiranih životinja bila tek diskretno veća u odnosu na referente intervale vrijednosti životinja, istu je moguće objasniti eventualnom manjom ingestijom hrane u klinički lošijim životinjama što može dati niže vrijednosti serumskog kalija neovisno o bubrežnim mehanizmima. S druge strane povećana smrtnost u kontrolnim životinjama, ali i životinjama tretiranih s L-NAME i L-argininom te njihovom zajedničkom primjenom koja se može objasniti i iznenadnom srčanom smrću zbog hiperkalijemije ili hipermagnezijemije koje nisu mogle biti zabilježene u postmortem životinjama, što predstavlja i moguće objašnjenje i za hipermagnezijemiju te hiperkalcijemiju. Ovim je istraživanjem nedvojbeno dokazano kako BPC 157 smanjuje aminoglikozidnu nefrotoksičnost te smrtnost u AOB te da djeluje zaštitnički na bubrege u AOB što se jasno očituje u manjim vrijednostima kreatinina, ureje, kalcija i magnezija, boljim kliničkim izgledom životinje, ali i PHD nalazom bubrega koji pokazuje ili tek blaga tubularna oštećenja ili praktički uredan nalaz. Za pretpostaviti je kako BPC 157 ostvaruje dodatni protekcijski učinak na bubrege u gentamicinskoj AOB neovisan o NO sustavu.

7. ZAKLJUČAK

1. BPC 157 smanjuje aminoglikozidnu nefrotoksičnost te smrtnost u AOB te djeluje zaštitnički na bubrege u AOB što se jasno očituje u statistički značajnijem boljem kliničkom statusu životinje, odsustvom oligurične i anurične faze AOB, manjim vrijednostima kreatinina, ureje, kalcija i magnezija te PHD nalazom bubrega koji pokazuje ili tek blaga tubularna oštećenja ili praktički uredan nalaz čime je potvrđena hipoteza istraživanja i opći cilj istraživanja.
2. Primjena BPC 157 u gentamicinom izazvanoj tubularnoj nekrozi smanjuje ili zaustavlja tubularnu nekrozu što se jasno vidi iz PHD nalaza bubrega koji pokazuje blaga tubularna oštećenja ili uredan nalaz.
3. Primjenom BPC 157 održana je glomerularna filtracija bubrega što se potvrđuje izostankom oligurične i anurične faze AOB.
4. BPC 157 učinak ostvaruje interferiranjem sa NO sustavom, ali i drugim mehanizmima koji nisu ovisni isključivo o NO sustavu.

8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

Uvod: istraživali smo učinak pentadekapeptida BPC 157 na aminoglikozidnu nefrotoksičnost (AOB) u štakora nakon primjene velike doze gentamicina. Pretpostavili smo da BPC 157 ima nefroprotektivni učinak moduliranjem pojačane aktivnosti iNOS-a u AOB. Stoga smo koristili različite kombinacije L-NAME i L-arginina s BPC 157 i gentamicinom.

Materijali i metode: Koristili smo muške Wistar albino štakore, tjelesne težine 150-200 grama. Štakori su randomizirani u 17 skupina, 10 štakora po skupini. Gentamicin u dozi 100 mg/kg tjelesne težine primijenjen je štakorima u svim skupinama. BPC 157 u odgovarajućim skupinama (OS) je primijenjen intraperitonealno i peroralno u OS, L-NAME i L-arginin i njihova kombinacija su primijenjeni u OS.

Rezultati: Klinički izgled mjereno je i ocijenjeno, a rezultat je znatno veći u svim skupinama koje nisu bile tretirane s BPC 157. Mjerena je dnevna diureza, poliurija je znatno veća i počinje ranije u skupinama koje nisu tretirane BPC 157, a anurična faza nije zabilježena kod štakora tretiranih s BPC 157. Značajno više razine kreatinina i magnezija su zabilježene u skupinama koje nisu tretirane s BPC 157. L-arginin povećava vrijednosti kreatinina, a L-arginin i L-NAME istodobno ga dodatno pogoršavaju. Relativna masa (RM) bubrega izmjerena je i rezultati pokazuju veću RM u svim skupinama koje nisu tretirane BPC 157, što je vjerojatno uzrokovano intersticijskim edemom. Konačno, uzorci bubrega su patohistološki analizirani i rezultati su značajno bolji kod štakora tretiranih s BPC 157.

Zaključak: dokazali smo da pentadekapeptid BPC 157 ima nefroprotektivni učinak. BPC 157 smanjuje AOB i smrtnost u AOB koji je vidljiv u značajno boljem ($p < 0,01$) kliničkom statusu životinje, izostanku oligurije i anurične faze AOB, nižim razinama kreatinina, ureje, kalcija i magnezija, dok PHD nalaz pokazuje blage tubularne ozljede ili praktički uredne nalaze. BPC 157 učinak ostvaruje interferiranjem sa NO sustavom, ali i drugim mehanizmima koji nisu ovisni isključivo o NO sustavu.

Ključne riječi: pentadekapeptid BPC 157, aminoglikozidna nefrotoksičnost, štakori

9. KRATKI SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU

Introduction: we have investigated the effect of pentadecapeptide BPC 157 on aminoglycoside nephrotoxicity (AN) in the rats after application of high dose of gentamicin. We assume that BPC 157 has nephroprotective effect by modulating overstimulative activity of iNOS in AN. Therefore we applied various combinations of L-NAME and L-arginin with BPC 157 and gentamicin.

Materials and methods: We have used male Wistar albino rats, body weight 150-200 grams. Rats have been randomized in 17 groups, 10 rats per group. Gentamicin in dose 100 mg/kg of body weight was administered to the rats in all groups. BPC 157 in attributable groups (AG) was administered intraperitoneally and per orally in AG. L-NAME, L-arginin and adequate combination were administered in AG.

Results: Clinical appearance was measured and scored, and score is significantly higher in all groups which were not been treated with BPC 157. Daily diuresis has been measured, polyuria is significantly higher and starts earlier in groups which are not treated with BPC 157, and anuric phase is not noted in BPC 157 treated rats. Significantly higher levels of creatinine and magnesium are noted in groups that are not treated with BPC 157. L-arginin raises creatinine values and concomitant L-arginin and L-NAME aggravates it more. Relative mass (RM) of kidney has been measured and results show higher RM in all groups that are not treated with BPC 157 which is probably caused by interstitial oedema. Finally, kidney samples will be patohistologically analysed and score is significantly better in BPC 157 treated rats.

Conclusion: we have proven that pentadecapeptide BPC 157 has a nephroprotective effect. BPC 157 decreases AN and mortality in AN which is evident in significantly better ($p < 0,01$) clinical status of the animal, absence of oliguric and anuric phase AN, lower creatinine, urea, calcium and magnesium levels, and PHD kidney findings showing either mild tubular lesions or virtually neat findings. BPC 157 effect is achieved by interference with the NO system, but also by other mechanisms that are not exclusively dependent on the NO system.

Keywords: pentadecapeptide BPC 157, aminoglycoside nephrotoxicity, rats

10. POPIS LITERATURE

1. Filipovic M. Pozitivan učinak stabilnog želučanog pentadekapeptida BPC 157 (BPC 157) u ishemijsko – reperfuzijskom oštećenju bubrega u štakora (disertacija). Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu; 2013.
2. Schrier WR, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *J Clin Invest.* 2004;114:5–14.
3. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int.* 2011;79:33-45
4. Wedeen RP, Batuman V, Cheeks C, Marquet E, Sobel H. Transport of gentamicin in rat proximal tubule. *Lab Invest.* 1983;48:212–223.
5. Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Aminoglycosides: Nephrotoxicity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1999; 43:1003-1012.
6. Vandewalle A, Farman N, Morin JP, Fillastre JP, Hatt PY, Bonvalet JP. Gentamicin incorporation along the nephron: autoradiographic study on isolated tubules. *Kidney Int.* 1981;19:529–539.
7. Sandoval R, Leiser J, Molitoris BA. Aminoglycoside antibiotics traffic to the Golgi complex in LLC-PK1 cells. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:167–174.
8. Silverblatt FJ, Kuehn C. Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell. *Kidney Int.* 1979;15:335–345.
9. Hori R, Okuda M, Ohishi Y, Yasuhara M, Takano M. Surface binding and intracellular uptake of gentamicin in the cultured kidney epithelial cell line (LLC-PK1). *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;261:1200–1205.
10. Skopicki HA, Zikos D, Sukowski EJ, Fisher KA, Peterson DR. Gentamicin inhibits carrier-mediated dipeptide transport in kidney. *Am J Physiol.* 1996;270:531–538.
11. Somermeyer MG, Knauss TC, Weinberg JM, Humes HD. Characterization of Ca²⁺ transport in rat renal brush-border membranes and its modulation by phosphatidic acid. *Biochem J.* 1983;214:37–46.
12. Priuska EM, Schacht J. Mechanism and prevention of aminoglycoside ototoxicity: outer hair cells as targets and tools. *Ear Nose Throat J.* 1997;76:164–171.
13. Fribley A, Zhang K, Kaufman RJ. Regulation of apoptosis by the unfolded protein response. *Methods Mol. Biol.* 2009;559:191–204.

14. Kim I, Xu W, Reed, JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2008;7:1013–1030.
15. Lai E, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress: signalling the unfolded protein response. *Physiology (Bethesda).* 2007; 22:193–201.
16. Peyrou M, Cribb AE. Effect of endoplasmic reticulum stress preconditioning on cytotoxicity of clinically relevant nephrotoxins in renal cell lines. *Toxicol. In Vitro.* 2007; 21:878–886.
17. Peyrou M, Hanna PE, Cribb AE. Cisplatin, gentamicin, and p-aminophenol induce markers of endoplasmic reticulum stress in the rat kidneys. *Toxicol. Sci.* 2007; 99:346–353.
18. Kerbiriou M, Teng L, Benz N, Trouve P, Ferec C. The calpain, caspase 12, caspase 3 cascade leading to apoptosis is altered in F508del-CFTR expressing cells. *PLoS One.* 2009; 4:e8436.
19. Levi M, Cronin RE. Early selective effects of gentamicin on renal brush-border membrane Na-Pi cotransport and Na-H exchange. *Am J Physiol.* 1990;258:1379-1387.
20. Todd JH, Sens DA, Hazen-Martin DJ, Bylander JE, Smyth BJ, Sens MA. Aminoglycoside antibiotics alter the electrogenic transport properties of cultured human proximal tubule cells. *Toxicol. Pathol.* 1992; 20:608–f6.
21. Fukuda Y, Malmberg AS, Aperia A. Gentamicin inhibition of Na-K-ATPase in rat kidney cells. *Acta Physiol. Scand.* 1991; 141:27–34.
22. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem. Sci.* 2007; 32:37–43.
23. Murphy MP. Nitric oxide and cell death. *Biochim. Biophys. Acta* 1999;1411:400–414.
24. Hsu YH, Chen CH, Hou CC, Sue YM, Cheng CY, Cheng TH i sur. Prostacyclin protects renal tubular cells from gentamicin-induced apoptosis via a PPAR alpha dependent pathway. *Kidney Int.* 2008; 73:578–587.
25. Kaloyanides GJ. Aminoglycoside-induced functional and biochemical defects in the renal cortex. *Fundam Appl Toxicol.* 1984;4:930–943.
26. Can C, Sen S, Boztok N, Tuglular I. Protective effect of oral L-arginine administration on gentamicin-induced renal failure in rats. *Eur J Pharmacol.* 2000;390:327-34.
27. Rivas-Cabanero L, Montero A, Lopez Nova M. Increased glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin induced renal failure. *Eur J Pharmacol.* 1994; 270:119–121
28. Ruenzi M, Stolte M, Veljaca M, Oreskovic K, Peterson J. Ulcerative Colitis Study Group. A multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled phase II study of PL 14736

enema in the treatment of mild-to-moderate ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2005;128:584.

29. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Petek M, Rucman R, Turkovic B i sur. The beneficial effect of BPC 157, a 15 aminoacid peptide BPC fragment, on gastric and duodenal lesion induced by restraint stress, cysteamine and 96% ethanol in rats. A comparative study with H2 receptor antagonists, dopamine promoters and gut peptides. *Life Sci*. 1994;54:63–68.

30. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V i sur. Beneficial effect of novel pentadecapeptide BPC 157 on gastric lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin, and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci*. 1996;41:1604–1614.

31. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V i sur. The influence of a novel pentadecapeptide BPC 157 on N^G-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosal integrity and blood pressure. *Eur J Pharmacol*. 1997;332:23–33.

32. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL i sur. Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol*. 2004;10:1032–1036.

33. Tkalcevic VI, Cuzic S, Brajsa K, Mildner B, Bokulic A, Situm K i sur. Enhancement by PL 14736 of granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression. *Eur J Pharmacol*. 2007;570:212–21.

34. Xue XC, Wu YJ, Gao MT. Study of the protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on wounds in small type pigs. *Chin New Drugs J*. 2004;12:602–604.

35. Staresinic M, Petrovic I, Novinscak T, Jukic I, Pevec D, Suknaic S i sur. Effective therapy of transected quadriceps muscle in rat: gastric pentadecapeptide BPC 157. *J Orthop Res*. 2006;24:1109–1117.

36. Veljaca M, Pavic Sladoljev D, Mildner B, Brajsa K, Bubenik M, Stipanagic S i sur. Safety, tolerability and pharmacokinetics of PL 14736, a novel agent for treatment of ulcerative colitis, in healthy male volunteers. *Gut*. 2003;51:309.

37. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Boban Blagica A, Zoricic I, Sever M i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 in trials for inflammatory bowel disease (PL-10, PLD-116, Pliva, Croatia). Full and distended stomach, and vascular response. *Inflammopharmacology*. 2006;14:1–8.

38. Veljaca M, Chan K, Guglietta A. Digestion of h-EGF, h-TGF alpha and BPC-15 in human gastric juice. *Gastroenterology*. 1995;108:761.

39. Lavallee M, Takamura M, Parent R, Thorin E. Crosstalk between endothelin and nitric oxide in the control of vascular tone. *Heart Fail Rev*. 2001;6:265–276.

40. Sikiric P, Separovic J, Anic T, Buljat G, Mikus D, Seiwert S i sur. The effect of pentadecapeptide BPC 157, H₂-blockers, omeprazole and sucralfate on new vessels and new granulation tissue formation. *J Physiol (Paris)*. 1999;93:479–485.
41. Turkovic B, Sikiric P, Seiwert S, Mise S, Anic T, Petek M i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157 studied for inflammatory bowel disease (PLD-116, PL14736, Pliva) induces nitric oxide synthesis. *Gastroenterology*. 2004;126:287.
42. Vegh A, Szekeres L, Parratt JR. Nitric oxide involvement in preconditioning of the ischaemic myocardium in anaesthetised dogs. *J Physiol (Lond)* 1992;446:541.
43. Boban-Blagaic A, Blagaic V, Romc Z, Jelovac N, Dodig G, Rucman R i sur. The influence of gastric pentadecapeptide BPC 157 on acute and chronic ethanol administration in mice. The effect of N(G)-nitro-L-arginine methyl ester and L-arginine. *Med Sci Monit*. 2006;12:36-45.
44. Grabarevic Z, Tisljar M, Artukovic B, Bratulic M, Dzaja P, Seiwert S i sur. The influence of BPC 157 on nitric oxide agonist and antagonist induced lesions in broiler chicks. *J Physiol (Paris)*. 1997;91:139–149.
45. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D i sur. A behavioural study of the effect of pentadecapeptide BPC 157 in Parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J Physiol (Paris)*. 1999;93:505–512.
46. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43:109-142.
47. Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:347-351.
48. Sikiric P. The pharmacological properties of the novel peptide BPC 157 (PL-10). *Inflammopharmacology*. 1999;7:1-14.
49. Prkacin I, Separovic J, Aralica G, Perovic D, Gjurasin M, Lovric-Bencic M i sur. Portal hypertension and liver lesions in chronically alcohol drinking rats prevented and reversed by stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL-10, PLD-116), and propranolol, but not ranitidine. *J Physiol Paris*. 2001;95:315-324.
50. Fauconneau B, Tallineau C, Huguet F, Piriou A. Gentamicin-induced kidney damage and lipid peroxidation in rats. *Toxicol Lett*. 1995;76:127–134.

51. Pessoa EA, Convento MB, Ribas OS, Tristão VR, Reis LA, Borges FT i sur. Preconditioning induced by gentamicin protects against acute kidney injury: the role of prostaglandins but not nitric oxide. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011;253:1-6.
52. Kosek JC, Mazze RI, Cousins MJ. Nephrotoxicity of gentamicin. *Lab Invest.* 1974;30:48–57.
53. Ghaznavi R, Kadkhodae M. Comparative effects of selective and non-selective nitric oxide synthase inhibition in gentamicin-induced rat nephrotoxicity. *Arch Toxicol.* 2007;81:453-7.
54. Bosnjak ZJ, Graf BM, Sikiric P, Stowe DF. Protective effects of newly isolated gastric peptide following hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea pig heart. *FASEB J.* 1994;8:12.
55. Rivas-Cabañero L, Rodríguez-López AM, Martínez-Salgado C, Saura M, Lamas S, López-Novoa JM. Gentamicin treatment increases mesangial cell nitric oxide production. *Exp Nephrol.* 1997;5:23-30.
56. Manikandan R, Beulaja M, Thiagarajan R, Priyadarsini A, Saravanan R, Arumugam M. Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. *Eur J Pharmacol.* 2011;670:578-85.
57. Poormoosavi SM, Behmanesh MA, Najafzadeh H. Effect of cimetidine on gentamicin-losartan induced - nephrotoxicity in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2010;4:341-345.
58. Bowman RL, Silverblatt FJ, Kaloyanides GJ. Comparison of the Nephrotoxicity of Netilmicin and Gentamicin in Rats. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1977;12:474-478.
59. Goligorsky MS, Budzikowski AS, Tsukahara H, Noiri E. Co-operation between endothelin and nitric oxide in promoting endothelial cell migration and angiogenesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2002;26:269–271.
60. Andre M, Latado H, Felley-Bosco E. Inducible nitric oxide synthase-dependent stimulation of PKGI and phosphorylation of VASP in human embryonic kidney cells. *Biochem Pharmacol.* 2005;69:595–602
61. Kumar U, Chen J, Sapoznikhov V, Canteros G, White BH, Sidhu A. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in the kidney of the spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens.* 2005;27:17–31.

62. Holmqvist B, Olsson CF, Svensson ML, Svanborg C, Forsell J, Alm P. Expression of nitric oxide synthase isoforms in the mouse kidney: cellular localization and influence by lipopolysaccharide and Toll-like receptor 4. *J Mol Histol.* 2005;36:499–516.
63. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L i sur. Stable gastric pentadecapeptide BPC 157-NO-system relation. *Curr Pharm Des.* 2014;20:1126-35.
64. Yamasawa H, Shimizu S, Inoue T, Takaoka M, Matsumura Y. Endothelial nitric oxide contributes to the renal protective effects of ischemic preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther.* 2005;312:153–159.
65. Kielar ML, Jeyarajah DR, Zhou XJ, Lu CY. Docosahexaenoic acid ameliorates murine ischemic acute renal failure and prevents increases in mRNA abundance for both TNF alpha and inducible nitric oxide synthase. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:389–396
66. Ali BH, Al Za'abi M, Blunden G, Nemmar A: Experimental gentamicin nephrotoxicity and agents that modify it: a mini-review of recent research. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2011;109:225-32.
67. Gabbai FB. Effects of nitric oxide synthesis blockers on renal function. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;1:10–13.
68. Schwartz D, Brasowski E, Raskin Y, Schwartz IF, Wolman Y, Blum M i sur. The outcome of nonselective vs. selective nitric oxide synthase inhibition in lipopolysaccharide treated rats. *J Nephrol.* 2001;14:110–114.
69. Assael BM, Chiabrando C, Gagliardi L, Nosedo A, Bamonte F, Salmona M. Prostaglandins and aminoglycoside nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1985;78:386–394.
70. Hishida A, Nakajima T, Yamada M, Kato A, Honda N. Roles of hemodynamic and tubular factors in gentamicin-mediated nephropathy. *Ren. Fail.* 1994;16:109–116.
71. Luft FC, Yum MN, Walker PD, Kleit, SA. Gentamicin gradient patterns and morphological changes in human kidneys. *Nephron* 18. 1977; 167–174.
72. Klotman PE, Yarger WE. Reduction of renal blood flow and proximal bicarbonate reabsorption in rats by gentamicin. *Kidney Int.* 1983;24:638–643.
73. Wexler BC, Kittinger GW. Myocardial necrosis in rats. Serum enzymes, adrenal steroid and histopathological alternations. *Circ res.* 1963;13:159-171.
74. Ozaki K, Yamamoto T, Ishibashi T, Matsubara T, Nishio M, Aizawa Y. Regulation of endothelial nitric oxide synthase and endothelin-1 expression by fluvastatin in human vascular endothelial cells. *Jpn J Pharmacol.* 2001;85:147–154.

75. Rivas-Cabañero L, Rodriguez-Barbero A, Arévalo M, López-Novoa JM. Effect of NG-nitro-L-arginine methyl ester on nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Nephron*. 1995;71:203-7.
76. Gomes Portella VG, Cosenza GP, Leite Diniz LR, Fernanda Pacheco L, Dantas Cassali G, Vidigal Caliari M i sur. Nephroprotective Effect of *Echinodorus macrophyllus* Micheli on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Nephron extra* 2012; 2:177-83.
77. Hussain T, Gupta RK, Sweety K, Eswaran B, Vijayakumar M, Rao CV. Nephroprotective activity of *Solanum xanthocarpum* fruit extract against gentamicin-induced nephrotoxicity and renal dysfunction in experimental rodents. *Asian Pac J Trop Med*. 2012;5:686-91.
78. Seiwerth S, Brcic L, Vuletic LB, Kolenc D, Aralica G, Misic M i sur. BPC 157 and blood vessels. *Curr Pharm Des*. 2014;20:1121-5.11.
79. Cerovecki T, Bojanic I, Brcic L, Radic B, Vukoja I, Seiwerth S i sur. Pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736) improves ligament healing in the rat. *J Orthop Res*. 2010; 28:1155-61.
80. Aynedjian HS, Nguyen D, Lee HY, Sablay LB, Bank N. Effects of dietary electrolyte supplementation on gentamicin nephrotoxicity. *Am J Med Sci*. 1988;295:444–452.
81. Ali BH. Gentamicin nephrotoxicity in humans and animals: some recent research. *Gen Pharmacol* 1995;26:1477–1487.
82. Hishida A, Nakajima T, Yamada M, Kato A, Honda N. Roles of hemodynamic and tubular factors in gentamicin-mediated nephropathy. *Renal Fail*. 1994;16:109–116.
83. Tajiri K, Miyakawa H, Marumo F, Sato C. Increased renal susceptibility to gentamicin in rat with obstructive jaundice. Role of lipid peroxidation. *Dig Dis Sci* 1995;40:1060–1064.
84. Seçilmiş MA, Karataş Y, Yorulmaz O, Buyukafşar K, Singirik E, Doran F i sur. Protective effect of L-arginine intake on the impaired renal vascular responses in the gentamicin-treated rats. *Nephron Physiol*. 2005;100:13-20.
85. Barisic I, Balenovic D, Klicek R, Radic B, Nikitovic B, Drmic D i sur. Mortal hyperkalemia disturbances in rats are NO-system related. The life saving effect of pentadecapeptide BPC 157. *Regul Pept*. 2013;181:50-66.
86. Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Attia FF. Protective effects of vitamin E and probucol against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 1999;40:183–187.
87. Barisic I. Učinak pentadekapeptida BPC 157 na izoprenalinom inducirani infarkt miokarda u štakora (disertacija). Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu; 2013.

88. Martínez-Salgado C, Eleno N, Tavares P, Rodríguez-Barbero A, García-Criado J, Bolaños JP i sur. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. *Kidney Int.* 2002;62:1682-92.
89. Sato W, Kadomatsu K, Yuzawa Y, Muramatsu H, Hotta N, Matsuo S i sur. Midkine is involved in neutrophil infiltration into the tubulointerstitium in ischemic renal injury. *J Immunol.* 2001;167:3463-9.
90. Aynedjian HS, Nguyen D, Lee HY, Sablay LB, Bank N. Effects of dietary electrolyte supplementation on gentamicin nephrotoxicity. *Am J Med Sci.* 1988;295:444–452.
91. Pai PG, Nawarathna SC, Kulkarni A, Habeeba U, Reddy CS, Teerthanath S i sur. Nephroprotective Effect of Ursolic Acid in a Murine Model of Gentamicin-Induced Renal Damage. *ISRN Pharmacol.* 2012; 2012:410902.
92. Zhang F, Siow YL, O K. Hyperhomocysteinemia activates NF-kappaB and inducible nitric oxide synthase in the kidney. *Kidney Int.* 2004; 65:1327–1338.
93. Ćorić-Martinović Valentina. Učinak pentadekapeptida BPC 157 i losartana na nefrotoksičnost epirubicina u eksperimentalnih životinja (disertacija). Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu; 2012.
94. Lovric-Bencic M, Sikiric P, Separovic J, Seiwerth S, Rogic D, Kusec V i sur. Doxorubicine congestive heart failure-increased big-endothelin 1 plasma concentration: reversal by amlodipine, losartan and gastric pentadecapeptide BPC 157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci.* 2004;95:19–26.
95. Seçilmiş MA, Karataş Y, Yorulmaz O, Buyukafşar K, Singirik E, Doran F i sur. Protective effect of L-arginine intake on the impaired renal vascular responses in the gentamicin-treated rats. *Nephron Physiol.* 2005;100:13-20.
96. Seiwerth S, Sikiric P, Grabarevic Z, Zoricic I, Hanzevacki M, Ljubanovic D i sur. BPC 157's effect on healing. *J Physiol Paris* 1997;91:173–8.
97. Williams DC, Frank RM, Muth WL, Burnett JP. Cytoplasmic inclusion bodies in *Escherichia coli* producing biosynthetic human insulin proteins. *Science* 1982;215:687–9.
98. Vlieghe P, Lisowski V, Martinez J, Khrestchatsky M. Synthetic therapeutic peptides: science and market. *Drug Discov Today* 2010;15:40–56.
99. Mikulcik P. Rapid Analysis – Blood gases and more; 1st English ed. Siemens Healthcare Diagnostics, München, Germany, 2009.
100. Rose BD, Post TW. *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders.* 5th ed. New York: McGraw-Hill; 2001;328-47.

101. Stewart PA. Modern quantitative acid–base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 1983;61:1444.
102. McGregor DP. Discovering and improving novel peptide therapeutics. *Curr Opin Pharmacol* 2008;8:616–9.
103. Sato AK, Viswanathan M, Kent RB, Wood CR. Therapeutic peptides: technological advances driving peptides into development. *Curr Opin Biotechnol* 2006;17:638–42.
104. Hruby VJ. Designing peptide receptor agonists and antagonists. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:847–58.
105. Lien S, Lowman HB. Therapeutic peptides. *Trends Biotechnol* 2003;21:556–62.
106. Sikiric P, Petek M, Rucman R, Seiwerth S, Grabarević Z, Rotkvić I i sur. A new gastric juice peptide BPC. An overview of stomach/stress/organoprotection hypothesis and BPC beneficial effects. *Burns* 2001;87:313–27.
107. Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Deuel TF. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor-beta. *Science* 1987;237:1333–6.
108. Urist MR. The first three decades of bone morphogenetic protein research. *Osteologie* 1995;4:207–23.
109. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA “A.MARXER“ 1996: 3H-PL-10.1.AK-15. Pharmacokinetics in the rat after single oral administration.
110. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA “A.MARXER“ 1996: 3H-PL-0.1.AK-15. Pharmacokinetics in the rat after single intravenous administration.
111. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA “A.MARXER“ 1996: 41-PL-10.1.AK-15. Whole-body autoradiography in the rat after single oral administration.
112. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA “A.MARXER“ 1995: Pharmacological receptor binding affinity of PL-10.1. *RBM Exp.* 950020.
113. INSTITUT ZA BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA “A.MARXER“ 1995: In vitro microsomal enzyme activity in mouse liver after repeated intravenous administration. *RBM Exp.* 950021.
114. Sikiric P, Seiwerth S, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B i sur. Revised Robert’s cytoprotection and adaptive cytoprotection and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Possible significance and implications for novel mediator. *Curr Pharm Des* 2010;16:1224–34.
115. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V i sur. Pentadecapeptide BPC 157 positively affects both nonsteroidal anti-inflammatory agent-induced gastrointestinal lesions and adjuvant arthritis in rats. *J Physiol Paris* 1997;91:113-22.

116. Szabó S. Critical and timely review of the concept of gastric cytoprotection. *Acta Physiol Hung* 1989;73:115–27.
117. Pawlik WW, Sikiric P, Brzozowski TM. Acceleration of ulcer healing by pentadecapeptide BPC 157 in rats. Involvement of endogenous prostaglandins and gastric secretion. *Gastroenterology* 2004;126:A541.
118. Ilic S, Drmic D, Franjic S, Kolenc D, Coric M, Brcic L i sur. Pentadecapeptide BPC 157 and its effects on a NSAID toxicity model: diclofenac-induced gastrointestinal, liver, and encephalopathy lesions. *Life Sci* 2011;88:535–42.
119. Ilic S, Brcic I, Mester M, Filipović M, Sever M, Klicek R i sur. Over-dose insulin and stable gastric pentadecapeptide BPC 157. Attenuated gastric ulcers, seizures, brain lesions, hepatomegaly, fatty liver, breakdown of liver glycogen, profound hypoglycemia and calcification in rats. *J Physiol Pharmacol* 2009;60:107–14.
120. Ilic S, Drmic D, Zarkovic K, Kolenc D, Coric M, Brcic L i sur. High hepatotoxic dose of paracetamol produces generalized convulsions and brain damage in rats. A counteraction with the stable gastric pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736). *J Physiol Pharmacol* 2010;61:241–50.
121. Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, Simonji K, Hanzevacki JS, Barisic I i sur. Inhibition of methyldigoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide BPC 157: a relation with NO-system. *Regul Pept* 2009;156:83-9.
122. Hrelec M, Klicek R, Brcic L, Brcic I, Cvjetko I, Seiwerth S i sur. Abdominal aorta anastomosis in rats and stable gastric pentadecapeptide BPC 157, prophylaxis and therapy. *J Physiol Pharmacol* 2009;60:161-5.
123. Bosnjak ZJ, Graf BM, Sikiric P, Stowe DF. Protective effects of newly isolated gastric peptide following hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea pig heart. *FASEB J* 1994;8:A12.
124. Stambolija V, Stambolija TP, Holjevac JK, Murselovic T, Radonic J, Duzel V i sur. BPC 157: The counteraction of succinylcholine, hyperkalemia, and arrhythmias. *Eur J Pharmacol*. 2016; 781:83-91.
125. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL i sur. Protective effects of pentadecapeptide BPC 157 on gastric ulcer in rats. *World J Gastroenterol*. 2004; 10(7):1032-6.
126. Sandor Z, Vincze A, Szabo S. The protective effect of a recently isolated gastric peptide in acute and chronic gastroduodenal injury. *FASEB Journal*. 1996;10:171.
127. Veljaca M, Pillana R, Lesch CA, Sanchez B, Chan K, Guglietta A. Protective effect of BPC 157 on a rat model of colitis. *Gastroenterology* 1994;106:789.

128. Novinscak T, Brcic L, Staresinic M, Jukic I, Radic B, Pevec D i sur. Gastric pentadecapeptide BPC 157 as an effective therapy for muscle crush injury in the rat. *Surg Today*. 2008;38:716-25.
129. Chang CH, Tsai WC, Lin MS, Hsu YH, Pang JH. The promoting effect of pentadecapeptide BPC 157 on tendon healing involves tendon outgrowth, cell survival, and cell migration. *J Appl Physiol*. 2011;110:774-80.
130. Gjurasin M, Miklic P, Zupancic B, Perovic D, Zarkovic K, Brcic L i sur. Peptide therapy with pentadecapeptide BPC 157 in traumatic nerve injury. *Regul Pept* 2010;160:33-41.
131. Brcic L, Brcic I, Staresinic M, Novinscak T, Sikiric P, Seiwerth S. Modulatory effect of gastric pentadecapeptide BPC 157 on angiogenesis in muscle and tendon healing. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60:191-6.
132. Keremi B, Lohinai Z, Komora P, Duhaj S, Borsi K, Jobbagy-Ovari G i sur. Antiinflammatory effect of BPC 157 on experimental periodontitis in rats. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60:115-22.
133. Plotnikov EY1, Grebenchikov OA, Babenko VA, Pevzner IB, Zorova LD, Likhvantsev VV i sur. Nephroprotective effect of GSK-3 β inhibition by lithium ions and δ -opioid receptor agonist dalargin on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Toxicol Lett*. 2013;220:303-8.
134. Ghaznavi R, Faghihi M, Kadkhodae M, Shams S, Khastar H. Effects of nitric oxide on gentamicin toxicity in isolated perfused rat kidneys. *J Nephrol*. 2005;18:548-52.
135. Valdivielso JM, Rivas-Cabañero L, Pérez-Barriocanal F, López-Novoa JM. Effect of nitric oxide synthesis modification on renal function in gentamicin-induced nephrotoxicity. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1997;3:123-8.
136. Sucic M. Učinak pentadekapeptida BPC 157, L-arginina i L-NAME kod hemoragičnog cistitisa induciranog ciklofosfamidom u štakora. Zagreb, Hrvatska: Sveučilište u Zagrebu; 2016.
137. Wacker W E C, Vallee B L. A Study of Magnesium Metabolism in Acute Renal Failure Employing a Multichannel Flame Spectrometer. *New England Journal of Medicine*. 1957; 257:1254–1262.
138. Young EW, Humes HD. Calcium and acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab*. 1991; 17:106-11.
139. Pessoa EA, Convento MB, Ribas OS, Tristão VR, Reis LA, Borges FT i sur. Preconditioning induced by gentamicin protects against acute kidney injury: the role of prostaglandins but not nitric oxide. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011;253:1-6.

11. Životopis

Rođen sam 13. srpnja 1984. godine u Požegi. Osnovnu školu završio sam u Pleternici, opću gimnaziju u Požegi te sam 2009. godine diplomirao na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Laboratorijskim eksperimentalnim radom na Zavodu za farmakologiju počinjem se baviti 2007. godine, a poslijediplomski studij Biomedicina i zdravstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 2011. godine.

Pripravnički staž obavio sam u Specijalnoj bolnici za medicinsku rehabilitaciju u Lipiku, a državni ispit položio 2010. godine, iste sam se godine zaposlio u Općoj županijskoj bolnici Požega. Specijalistički ispit iz opće interne medicine položio sam 2015. godine, a ispit iz uže specijalizacije iz gastroenterologije 2018. godine, iste sam godine u OŽB Požega uveo endosonografiju.

Osnivač sam i predsjednik Udruge narodnog zdravlja Andrija Štampar, od 2014. do 2017. godine bio sam dopredsjednik Hrvatskog društva mladih liječnika, a od 2015. do 2017. godine tajnik Hrvatske udruge bolničkih liječnika. Od 2015. godine član sam Povjerenstva za ostale liječničke djelatnosti Hrvatske liječničke komore, te sam član Povjerenstva za palijativnu medicinu Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske i Upravnog vijeća Opće županijske bolnice Požega od 2016. godine. Bio sam predsjednik Organizacijskog odbora 4. Croatian Student Summit-a (CROSS) 2008. godine te član organizacijskog odbora 2009. i 2010. godine kao i član organizacijskog odbora prvog Kongresa studenata prava 2009. godine. Bio sam tajnik organizacijskog odbora Stručno – edukacijskog simpozija Štamparovi dani od 2009. do 2017. i predsjednik Organizacijskog odbora 2018. godine te član organizacijskog odbora drugog Kongresa mladih gastroenterologa i organizator simpozija Izazovi i mogućnosti endosonografske dijagnostike 2018. godine.

Objavljeni radovi:

1. Cerovecki T, Bojanic I, Brcic L, Radic B, Vukoja I, Seiwerth S i sur. Pentadecapeptide BPC 157 (PL 14736) improves ligament healing in the rat. J Orthop Res. 2010; 28:1155-61.