

**Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**Oralis antidiabetikumok használhatósága  
és a cardiovascularis szövődmények  
kialakulásában szerepet játszó egyes tényezők vizsgálata  
kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában**

**PhD dolgozat tézisei**

**Dr. Balogh Éva**

**2009**

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**Témavezető:**

.....  
Prof. Dr. Semjén Gábor CSc  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

**Témabizottsági tagok:**

.....  
Prof. Dr. Vörös Károly DSc  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Belgyógyászati Tanszék és Klinika

.....  
Dr. Németh Tibor PhD  
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar  
Sebészeti és Szemészeti Tanszék és Klinika

.....  
Dr. Balogh Éva

## ÖSSZEFOGLALÁS

A diabetes mellitus az egyik leggyakrabban diagnosztizált hormonális betegség kutyákban. A kór emberek között is gyakori, a humán medicina népbetegségként tartja számon. Emberekben a 2-es típusú diabetes lényegesen gyakoribb mint az 1-es típus, bár idővel a 2-es típusnak induló betegségben is szükség lehet inzulin adagolására.

A cukorbetegség következtében kialakult szövődmények, különösen a cardiovascularis elváltozások emberben jelentősen hozzájárulnak a halálához.

A fentiek alapján a kutyák cukorbetegsége egyaránt jelentőséggel bír mind az állatorvosok, mind az experimentális humán medicina számára.

Az állatorvosi gyakorlat jelentős részét képezi a diabeteses kutyák gondozása, kezelése. A terápia kutyák esetében szinte kizárólag az inzulinra alapul.

A dolgozat első témája a humán gyakorlatban a 2-es típusú diabetesben alkalmazott fő gyógyszercsoportok hatásosságának vizsgálata kutya alloxan indukálta diabetesében.

Az alfa-glükózidáz-hidroxiláz gátló acarbose, a biguanid típusú metformin és a szulfanilurea csoportba tartozó gliclazid közül csupán a metformin okozott szignifikáns csökkenést a postprandialis vércukorszintben az etetés előtti vércukor értékekhez viszonyítva.

A dolgozat további két része olyan témával foglalkozik, amelynek humán és állatorvosi vetülete egyaránt van.

Második kísérletünkben az endothelin-1 (ET-1), az atrialis natriureticus peptid N-terminalis fragmentuma (NT-ANP) és az atrialis natriureticus peptid (ANP) mennyiségének változását határoztuk meg arteriovenosus sönttel létrehozott akut haemodinamikai terhelés hatására kutyák kísérletes diabetesében a perifériás vérben, a coronariákból vett vérben és a pericardialis folyadékban.

Az ET-1 számos hatással rendelkező endogén peptid. Erős vasoconstrictiót okoz, pozitív inotrop tulajdonságú, emellett arrhythmiai kiváltására is képes és hozzájárulhat bizonyos patológias állapotok kialakulásához.

Eredményeink szerint az endothelinrendszer eltérően reagál akut haemodinamikai terhelésre diabeteses és egészséges állatokban, amely feltehetően a diabeteses szív adaptációs válaszának tulajdonítható. A pericardium a perifériás és coronariás keringéstől funkcionálisan eltérő kompartmentet képvisel.

Az ET-1-nek szerepet tulajdonítanak az ANP termelésében, ezért vizsgáltuk az ANP és N-terminális fragmentje szintjének változását is. Míg az NT-ANP mennyiségének változása jól, addig az ANP koncentrációjának eltérései kevésbé követték a haemodinamikai állapot változását.

Harmadik kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy az ET-1 által kiváltott arrhythmiai jelentkezése, jellege, időtartama, súlyossága eltér-e metabolikusan egészséges és diabeteses kutyákban.

A kísérlet eredménye szerint a diabeteses szív érzékenyebb az ET-1 által kiváltott arrhythmiaikra.

## CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink az alábbi három cél köré csoportosultak:

- A humán medicinában 2-es típusú diabetesben leggyakrabban használt hatástani csoportok (szénhidrát felszívódást csökkentő, inzulinhatást fokozó és inzulinelválasztást serkentő szerek) egy-egy képviselője hatásosságának vizsgálata kutya alloxan diabetesében.
- Az endothelin-1 és a szív terhelésének markereként jellemezhető natriureticus peptid, valamint a natriureticus peptid N-terminális fragmentje szintjének változása és a köztük fellelhető esetleges összefüggések meghatározása akut haemodinamikai terhelés hatására kutya modellen kísérletes diabetesben.
- Alacsony dóziszú intracoronariás endothelin-1 infúzió arrhythmogen hatásának vizsgálata diabeteses és egészséges szíven kutyában. A kapott eredmények alapján a metabolikus betegséggel terhelt szív reakciókészségének összehasonlítása az egészséges szívével.

## SAJÁT VIZSGÁLATOK

### 1. kísérlet: Oralis antidiabetikumok kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában

#### VIZSGÁLATI KÖRÜLMÉNYEK

A kísérletben 17 középtermetű, mesterségesen kiváltott cukorbetegségben szenvedő keverék kan és szuka kutyát használtunk. Az állatokat egyedi ketrecekben helyeztük el, váltakozva 12 órán át mesterséges megvilágításban és 12 órán át sötétben tartottuk, 20 C°-os átlaghőmérsékleten. Naponta kétszer (7.00 és 15.00 órakor) etettünk teljesértékű kutyatápot. Vízet *ad libitum* kaptak az állatok.

A cukorbetegséget 560  $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$  alloxan egyszeri intravénás adagolásával váltottuk ki. A kísérletben részt vevő kutyák vércukor értéke a 7. napon 6,5–8,3 mmol/l volt.

A 8–15. napon a még kezeletlen kutyákban a vércukor értékeket naponta kétszer, közvetlenül a reggeli etetés előtt (éhhomi vércukorszint, ÉVC), illetve 60 perccel később, az etetés után (postprandialis vércukorszint, PPVC) mértük. Az ebben a periódusban mért adatok szolgáltatták a kontroll vércukor értékeket.

A kísérlet 16. napján a kutyákat random módon három csoportba osztottuk. Az első csoportnak ( $n = 6$ ) napi 200 mg acarbose (9,1  $\pm$  0,8 mg/ttkg) adagoltunk. A második csoport ( $n = 5$ ) egyedeit napi 1700 mg metforminnal (60,9  $\pm$  6,4 mg/ttkg) kezeltük. A harmadik csoport ( $n = 6$ ) naponta 160 mg gliclazidot kapott.

A napi gyógyszeradagot két egyenlő részre osztva az etetésekkel egyidőben adagoltuk. A kezelést öt héten keresztül folytattuk. Az ÉVC és PPVC értékeket továbbra is naponta meghatároztuk.

A vérképet és a következő biokémiai paramétereiket: alanin-amino-transzferáz (ALT), alkalikus foszfatáz (ALP), amiláz, lipáz, triglicerid és összkoleszterin megvizsgáltuk a kísérlet kezdetén, majd annak időtartama alatt hetente.

Az inzulint hetente mértük az inzulinválasztást serkentő gliclaziddal kezelt csoport kivételével, ahol minden harmadik napon történt meghatározás.

A statisztikai értékeléshez a postprandialis és éhhomi vércukor értékek különbsége szolgált. Az etetés után és az etetés előtt mért vércukor értékek különbsége (PPVC-ÉVC) adta a vércukor különbség értéket (VCK). A napi VCK-eket átlagoltuk minden kutyában a kontroll és a kezelt időszakra egyaránt. A kontroll és a kezelt periódus átlagából adódott a kezelési különbség (KK) külön minden kutyára. A KK-ek átlaga adta az átlagos vércukorszint csökkenést (MD) minden egyes vizsgált anyagra. Az MD szignifikanciáját kétmintás t-próbával elemeztük. Az adatokat Shapiro-Wilk normalitás teszttel ellenőriztük.

#### **EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS**

A kezelés folyamán az éhhomi és postprandialis vércukorszintek az acarbose és a metformin csoportban normális-enyhén emelkedett tartományban (4,0–8,5 mmol/l) voltak, míg a gliclaziddal kezelt kutyákból háromnál esetenként kifejezetten magas (legnagyobb érték: 22,4 mmol/l) vércukor értékeket is mértünk.

Acarbose kezelés esetén az átlagos csökkenés (MD)  $0,49 \pm 0,58$  mmol/l ( $P = 0,09$ ), metforminnál  $1,28 \pm 0,69$  mmol/l ( $P = 0,01$ ), és gliclazid esetén  $0,08 \pm 1,33$  mmol/l ( $P = 0,88$ ) volt.

A statisztikai értékelés alapján a három vizsgált szer közül csak a metformin okozott szignifikáns vércukorszint csökkenést.

A kísérleti állatok vérképe nem mutatott eltérést a kísérlet időtartama alatt a metformin csoportban két állatnál megfigyelt átmeneti eosinophiliától eltekintve, mely feltehetően nem volt kapcsolatban a kezeléssel.

Az ALT, ALP, amiláz, értékeiben esetenként emelkedést tapasztaltunk, amelyet feltehetően részben a májra fokozott terhelést jelentő alloxán kezelés idézett elő.

A vérplazma lipáz, triglicerid, és összkoleszterin-szintje a kísérlet folyamán végig normális értéket mutatott.

Az inzulinszint a metformin csoportban csak néhány esetben változott, az acarbose és gliclazid csoportban több esetben a referencia tartomány alatti volt.

Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a humán gyógyászatban rutinszerűen alkalmazott szerek csökkentik-e a vércukorszintet kutyák kísérletes diabetesében. Az alloxan az alkalmazott dózistól függő mértékű pusztulást okoz a béta-sejtekben (Cooperstein és Watkins 1981). Az általunk alkalmazott dózis mellett maradt némi béta-sejt aktivitás, amit a kísérletben felhasznált kutyák kiválasztásánál is szempontnak tekinttünk. Célunk volt, hogy a modell minél jobban megközelítse a 2-es típusú cukorbetegségnek megfelelő állapotot.



Kísérletünkben a három vizsgált anyag közül az *acarbose* nem okozott statisztikusan szignifikáns étetés utáni (postprandialis) vércukorszint csökkenést a kontrollhoz képest.

Az *acarbose* a glükózmétabolizáció kezdeti lépéseinél hat. Csökkenti a szénhidrátok emésztését és felszívódását, aminek eredményeképp csökken a táplálkozás utáni vércukorszint (Gerard et al. 1981, Dimitriadis et al. 1985, Rios 1994). Kevesebb glükóz kerül a keringésbe, és ezzel együtt a béta-sejtekhez is (Coniff et al. 1995). Bár maga a szer nem befolyásolja sem a sejtek glükóz felvételét sem az inzulinelválasztást, a napi inzulinszükséglet csökken (Balfour és McTavish 1993, Rios 1994). A tápcsatornából nem szívódik fel.

Az *acarbose* hatását befolyásolja az eleség összetétele is, magasabb szénhidrátartalmú eleség mellett jelentősebb hatást képes kifejteni. Az *acarbose* hatása lassabban alakul ki, köszönhető ez feltehetően annak, hogy a vékonybél kefeszegély-enzimeinek bizonyos hányadát előbb blokkolnia kell (Robertson et al. 1999).

Egészséges kutyákban irodalmi adatok szerint az *acarbose* csökkenti az inzulin elválasztását a szénhidrátok felszívódásának késleltetése által (Robertson et al. 1999).

Kísérletünkben mértük a vércukorszintet egyszer étetés előtt, majd ismételtén étetés után 60 perccel, a vércukor értékekben azonban nem tapasztaltunk következetes változást.

A fentiek alapján érdemes volna az *acarbose*-t inzulinnal és metforminnal kombinációban is vizsgálni elhízott kutyákban, mivel ezen szerek támadáspontja eltérő.

Az inzulinérzékenységet fokozó *metformin* kísérletünkben szignifikánsan csökkentette az etetés utáni vércukorszintet az éhhomihoz képest.

Méréseink szerint az éhhomi vércukor értékek nem változtak (4,0–8,5 mmol/l) a kísérlet 4–5 hetes időtartama alatt, azonban kezdetben sem voltak kiugróan magasak.

A metformin feltehetően többféle hatással is rendelkezik kutyában: növeli a perifériás szövetek glükózfelvételét és -oxidációját, növeli az inzulinreceptorok aktivitását és késlelteti a bélből a cukor felszívódását, amely hatások eredőjeként csökken a postprandialis vércukorszint. Inzulinérzékenyítő hatásmechanizmusából következően, a metformin növeli a perifériás szövetek inzulinérzékenységét, inzulin hiányában azonban nem hatékony (Stumvoll et al. 1995). Ugyanakkor a metformin kezelés – irodalmi adatok szerint – csökkenti a plazma inzulintartalmát, ami szintén arra utal, hogy a biguanidok csökkentik az inzulinrezisztenciát (Lenhard et al. 1997).

Kísérletünkben az inzulinreceptorok érzékenysége feltehetően nem csökkent mint egy valódi 2-es típusú cukorbeteg esetén, a metformin azonban így is szignifikánsan mérsékelte a postprandialis vércukorszintet. Nem csökkentette azonban az inzulinválasztást, amely a kísérleti modellállatainkban eredetileg sem volt magas, mint ami inzulinrezisztencia esetén tapasztalható.

A fentieknek megfelelően metformint a cukorbetegség bizonyos típusaiban lehet alkalmazni, elsősorban másodlagosan kialakult diabetesben amikor még van inzulintermelés. Például ősztrusz diabetes esetén, vagy elhízott kutyákban, amelyek glükóztoleranciája csökkent. Ilyenkor is

szükséges azonban az adekvát kezelés (ivartalanítás, vagy étrendváltás, súlycsökkentés), amely szerencsés esetben visszaállítja a normális anyagcsereállapotot.

A harmadik vizsgált szer, a *gliclazid* nem csökkentette szignifikánsan a postprandialis vércukorszintet az éhmihez képest. A gliclazid a vércukorszint csökkentéséhez több ponton is hozzájárul. Serkenti a pancreas inzulin elválasztását (hatástani besorolása is e tulajdonsága alapján történik), emellett a májban akadályozza a glikogén glükózzá bontását, ugyanakkor gátolja a glükóz szintézisét. Az inzulinelválasztás serkentése mellett inzulinérzékenyítő hatással is rendelkezik hasonlóan a metforminhoz, mivel fokozza az inzulin kötődését az inzulin receptorhoz, ezzel lehetővé téve az inzulin sejten gyakorolt hatásának kialakulását és az inzulinrezisztencia mérséklését.

#### **KÖVETKEZTETÉSEK**

A humán gyakorlatban alkalmazott inzulinérzékenyítő metformin kutyában is csökkenti az etetés utáni vércukorszintet.

A metformin alkalmazásának lehetőségeit érdemes lenne további vizsgálatokkal tanulmányozni kutyában.

Fontos volna meghatározni milyen típusú diabetesben és milyen dózisban, esetleg milyen kombinációban lehetne alkalmazni.

## **2. kísérlet: Endothelin- és natriureticus peptidszint szívhipertrófiában kísérletes diabetes mellitusban kutyában**

### **VIZSGÁLATI KÖRÜLMÉNYEK**

A kísérletben 21 egészséges és 20 diabeteses kutyát használtunk. A cukorbetegséget 560  $\mu\text{mol}/\text{tkg}$  alloxan egyszeri intravénás adagolásával váltottuk ki. A cukorbeteg állatokat 8 héttel a diabetes indukciója után vontuk a kísérletbe. Azokat a kutyákat választottuk be, melyek vércukorszintje a 15 mmol/l értéket meghaladta.

A szívhipertrófiát söntkeringéssel indukáltuk. A söntműtét során az arteria és vena femoralis közé 3–4 centiméter hosszú szakaszon side-to-side anasztomózist készítettünk. A kontroll kutyákon is azonos műtéti beavatkozást végeztünk, sönt kialakítása nélkül.

Az állatokat hat csoportra osztottuk. Egészséges kontroll („álműtött”) (n = 10), egészséges 1 napos söntkeringéssel (n = 6), egészséges 3 napos söntkeringéssel (n = 5), diabeteses kontroll („álműtött”) (n = 10), diabeteses 1 napos söntkeringéssel (n = 5) és diabeteses 3 napos söntkeringéssel (n = 5).

A vérnyomást, a szívfrekvenciát és az artériás középnyomást rögzítettük. A söntműtétet követően egy vagy három nappal történt eutanázia után vizsgáltuk a kutyákat. A szív súlyát annak eltávolítása után rögzítettük.

Az endothelin-1, az N-terminális atrialis natriureticus peptid, és a natriureticus peptid mennyiségét a pericardialis folyadékban, a coronariás és a perifériás vérben radioimmunassay segítségével határoztuk meg.

A statisztikai analízishez az adatok eltéréseinek varianciáját Mann-Whitney teszttel vizsgáltuk.

#### **EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS**

A diabeteses kutyák vérnyomása alacsonyabb volt, mint az egészséges kontroll állatoké, mely a kezeletlen diabetesben kialakuló folyadék- és elektrolithiánynak tulajdonítható. A sönt kialakítása 1 nap után tovább csökkentette a vérnyomást a cukorbeteg kutyákban, míg az egészséges állatokban a söntkeringés nem gyakorolt hatást a vérnyomásra.

Mind a jobb, mind a bal kamra súlya megnőtt a sönt hatására. A diabeteses csoportban a szív súlyának és a testsúlynak; hasonlóan a bal kamra súlyának és a testsúlynak az aránya megnőtt már 1 napos söntkeringés után, míg az anyagcsere egészséges csoportban hasonló változást csak három nap múlva tapasztaltunk. A szív súlyának növekedése mellett az NT-ANP mennyisége is megemelkedett az egészséges és a diabeteses állatokban egyaránt, ami arra utalt, hogy modellünkben a szívhipertrófiához vezető folyamatok megindultak.

A szívhipertrófia kialakulása során a szív terhelésének növekedésével a kontraktilitás is fokozódik, amelyet különféle autokrin és parakrin faktorok megemelkedett elválasztása kísér. Ilyenek az endothelin-1 és az angiotenzin II (Sadoshima et al. 1993, Yamazaki et al. 1995), amelynek sokan elsődleges szerepet tulajdonítanak a szívhipertrófia kialakulásában (Kim és Iwao 2000).

Lakó-Futó és munkatársai angiotenzin II által indukált nyomás túlerheléses modellben patkányokban a bal kamra súly/testsúly arányának

9%-os növekedését igazolták 12 óra után, amely 16%-ra emelkedett 72 óra elteltével (Lakó-Futó et al. 2003).

Kísérletünkben az ET-1 szint sönt hatására a coronariákban és a perifériás vérben diabeteses állapotban szignifikánsan csökkent, míg egészséges állatokban nem volt változás. Diabeteses állatokban a három kompartment közül a pericardiumban mértük a legalacsonyabb ET-1 szintet, amelyet a sönt kialakítása sem változtatott meg. Egészséges állatokban azonban a pericardialis folyadék és a coronariák plazmájának endothelinszintje magasabb volt a perifériás plazmában mértnél. A perifériás plazma ET-1 szintje ugyanakkor diabeteses kutyákban szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollénál.

Egészséges állatokban a plazmaszintet meghaladó pericardialis ET-1 szint összhangban áll a különböző fajokra, (patkány, kutya és ember) vonatkozó irodalmi adatokkal (Horkay et al. 1998). Ehhez hozzájárulhat az is, hogy az ET-1 hatszor gyorsabban eliminálódik a plazmából, mint a pericardialis folyadékból (Shiba et al. 1989, Szokodi et al. 1998). A coronariák ET-1 szintje hasonlóképpen változott, mint a plazma ET-1 szintje, ugyanakkor nem volt következetes változás megfigyelhető a pericardium ET-1 tartalmában. Mindez arra utal, hogy a pericardialis folyadék funkcionálisan külön egységet képvisel. Egészséges állatokban a szisztémás keringésben mért értéknél magasabb coronaria ET-1 szint arra enged következtetni, hogy a szív aktívan részt vesz a vér endothelinszintjének kialakításában.

A natriureticus peptid elválasztásában az ET-1-nek is szerepet tulajdonítanak (Ruskoaho et al. 1997). Kísérletünkben ezért mértük a peri-

fériás vérplazma, a coronaria sinus és a pericardialis folyadék endothelin és ANP tartalmát is.

Az NT-ANP szint alakulása a perifériás vérben, a coronariákban és a pericardialis folyadékban egyaránt analóg módon változott, nevezetesen a kontroll állatokban alacsony volt, sőt hatására azonban megemelkedett.

Az ANP szintje szignifikánsan megemelkedett a perifériás plazmában 3 napos söntkeringés után egészséges és diabeteses csoportban egyaránt, ezen kívül a pericardialis folyadékban egészséges kutyákban 1 napos söntkeringés hatására.

A vérnyomást szabályozó számos anyag között az endothelin és a natriureticus peptid alapvető szerepet játszik. Hatásuk ellentétes: az endothelin potens vasoconstrictor, míg a natriureticus peptid vasodilatációt okoz.

A natriureticus peptidek és N-terminális fragmentumuk koncentrációjának meghatározását, mint biokémiai vizsgálmódszert sokhelyütt alkalmazzák a szívfunkció objektív megítélésére, szívelégtelenség diagnosztizálására, progressziójának követésére, valamint a terápia hatásosságának ellenőrzésére. A vérplazmában mért koncentrációjuk emelkedése megbízható és érzékeny jelzője a funkcióromlásnak (Moe 2006) emberben és kutyában is (Boswood et al. 2008, Haddad et al. 2008, Schellenberg et al. 2008). A biológiailag aktív ágenssel ekvivalens mennyiségben termelődő N-terminális fragmentum hosszabb féléletideje miatt alkalmasabb a vizsgálatra, amit kísérletünk eredményei is alátámasztanak.

Az endothelin szívre kifejtett hatásai szerteágazók. Erős vasoconstrictiót és direkt arrhythmia-t kiváltó hatása mind rövid, mind hosszú távon káros. Az ET-1 által előidézett szövetproliferáció szintén patológias következményekkel jár, melyek csupán hosszabb idő után nyilvánulnak meg. Másrészt azonban az ET-1-nek pozitív inotrop hatása előnyös lehet, mivel befolyásolja a szív inotrop választ, amely a Frank-Starling mechanizmuson keresztül akut adaptációra ad lehetőséget.

A fentiek alapján feltételezhető, hogy a modellünkben megfigyelt akut változások a plazma ET-1 szintjében nem jártak rövid távon funkcionális következményekkel diabeteses kutyákban.

#### **KÖVETKEZTETÉSEK**

Az endothelinrendszer másképp reagál akut haemodinamikai terhelésre alloxan indukálta diabeteses és metabolikusan egészséges kutyában.

Diabeteses kutyákban a perifériás vérplazma ET-1 szintjének csökkenése akut haemodinamikai terhelés hatására feltehetően egy adaptációs válasz, mivel csökkenti a vasospasmus és az arrhythmia kialakulásának lehetőségét.

A pericardialis folyadék a szervezet endothelin rendszerében különálló funkcionális egységet képvisel.



### **3. kísérlet: Endothelin által kiváltott kamrai arrhythmriák vizsgálata kísérletes diabetes mellitusban kutyában**

#### **VIZSGÁLATI KÖRÜLMÉNYEK**

A kísérletben 19 egészséges és 4 diabeteses kutya szerepelt. A cukorbetegséget 560  $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$  alloxan egyszeri intravénás adagolásával váltottuk ki. A vizsgálatokat 8 hét diabeteses kórelőzmény után végeztük el. A kísérletbe vont diabeteses kutyák vércukorszintje meghaladta a 15 mmol/l értéket.

Az 1-es (n = 4), 2-es (n = 11) és 3-as (n = 4) csoportba metabolikusan egészséges állatok tartoztak, míg a 4-es csoport (n = 4) kísérletesen diabetesessé tett kutyákból állt.

Az egészséges kutyákból álló 1-es csoportnak fizioiógias sóoldatot adtunk.

A szintén egészséges kutyákból álló 2-es csoportnak ET-1 adagolását indítottuk 33 pmol/perc sebességgel.

A 3-as csoport, amely az előbbiekhöz hasonlóan egészséges kutyákból állt, szintén ET-1-et kapott 33 pmol/perc sebességgel, emellett 25 mmol/l glükózoldatot is adagoltunk a coronariaáramlás alapján számított sebességgel olyan módon, hogy a koszorúérben a glükóz koncentrációja lokálisan elérje a 20 mmol/l körüli értéket.

A diabeteses kutyákból álló 4-es csoportnak az előbbiekhöz hasonlóan ET-1-et adagoltunk 33 pmol/perc sebességgel.

Az állatoknak az infúziók (fizioiógias sóoldat, ET-1, glükóz oldat) adagolását a kísérlet 0. percétől a kísérlet befejezéséig folytattuk. A kí-

sérleteket az ET-1-et kapó csoportokban a kamrafibrilláció beállásakor fejeztük be, a kontroll csoportban pedig a 40. percben mért adatok felvétele után.

Folyamatosan regisztráltuk az artériás középnyomást, a szívfrekvenciát és a coronariaáramlást, emellett standard elektrokardiogramm (EKG) is készült. Rögzítettük az arrhythmiák bekövetkezéséig eltelt időt.

A mért értékek statisztikai összehasonlításához Student t-tesztet alkalmaztunk.

#### **EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS**

A haemodinamikai paraméterek: az artériás középnyomás, a szívfrekvencia és a coronariaáramlás gyakorlatilag változatlanok maradtak a csak fiziológiás sóoldattal kezelt kontroll csoportban a kísérlet folyamán.

A 4-es csoportban (ET-1-et kapó diabeteses kutyák) az artériás középnyomás szignifikánsan csökkent az egészséges, szintén ET-1-el kezelt 2-es csoporthoz képest a kísérlet 40. percében, ami az időközben fellépett kamrafibrillációnak tulajdonítható.

A 3-as csoportban (ET-1+lokális hyperglykaemia) a szívfrekvencia szignifikánsan emelkedett a kísérlet 40. percénél a csak ET-1-et kapó 2-es csoporthoz képest, ami a tachycardia megjelenésének időbeliségével magyarázható: a 3-as csoportban  $26,3 \pm 6,7$  perc, míg a 2-es csoportban  $30,0 \pm 12,4$  perc a tachycardia megjelenéséig eltelt átlagos idő.

A fiziológiás sóoldattal infundált csoportban nem jelentkezett arrhythmia (1-es csoport). Metabolikusan egészséges kutyákban az endothelin

infundálásának átlagosan 24. percétől nagyobb számban fordult elő kamrai extrasystole, esetenként coupletek, tripletek. Ugyanez szignifikánsan hamarabb (18,7 percnél) jelent meg a diabeteses állatokban (4-es csoport) az egészséges 3-as és 2-es csoporthoz képest.

Az endothelin infúziójának 30. perce körül visszatérő, paroxismális (non-sustained) tachycardia jelentkezett, amely a 35. perc körül tartós (sustained) tachycardiává fejlődött, amely végül kamrai fibrillációhoz vezetett és a kísérlet befejezését jelentette.

A lokális hyperglykaemia, amit az ET-1 adagolása mellett 25 mmol/l glükóz egyidejű infundálásával alakítottunk ki (3-as csoport), nem befolyásolta az arrythmiák megjelenésének idejét a csupán ET-1-et kapó 2-es csoportban megfigyelthez képest. A csoportok között nem mutatkozott eltérés a megfigyelt kamrafibrillációk számában, vagy a kísérlet befejezéséig eltelt időben.

Az ET-1 a szervezet fontos, cardiovascularis hatásokkal is rendelkező vasoaktív anyaga. Erős vasoconstrictor tulajdonsága mellett arrhythmogen hatással is bír, amely részben az általa kiváltott vasoconstrictio miatt fellépő ischaemia számlájára írható, ugyanakkor ismeretes a myocardiumra gyakorolt direkt arrhythmogen hatása is. A diabetes, amely a szervezet számos metabolikus folyamatának megváltozását okozza, az ET-1 szintjére is befolyással van. Cukorbeteg plazmájában – ahogy azt előző kísérletünk eredményei is igazolják – emelkedett endothelin-szint mérhető.

Kísérleti adatok szerint magas dózisu intracoronariás ET-1 infúzió myocardialis ischaemiát eredményezett, amely szintén arrhythmogen ha-

tású, így az ET-1 direkt és indirekt arrhythmogen hatása is érvényesült és tovább rövidítette a ventricularis tachycardia megjelenéséig eltelt időt (Yorikane et al. 1991).

Alacsony dóziszú (30 pmol/perc) intracoronariás ET-1 infúzió hatására a szív irritabilitása nőtt és jellemző ventricularis tachycardia lépett fel myocardialis ischaemiára utaló jelek nélkül, ami az ET-1 direkt arrhythmogen hatásának tulajdonítható (Tóth et al 1995).

Kísérletünkben a coronariaáramlás nem változott az alkalmazott ET-1 dózis mellett, jelezve hogy nem kellett ischaemiás hatással számolnunk. Mindez alátámasztja, hogy az ET-1 arrhythmogén hatása direkt módon jelentkezett.

Irodalmi adatok szerint a diabetesben kialakult hyperglykaemia hatására nő az ET-1 koncentrációja, ugyanakkor növekszik az aktív ET-1 előállításában fontos szerepet játszó endothelin-konvertáz enzim aktivítása is. Az ET-1 receptorhoz való affinitása szintén növekszik (Cardillo et al. 2002). A hyperglykaemia endothelinrendszerre gyakorolt hatása érzékenyítheti a diabeteses szívet, ami malignus arrhythmiaiákhöz vezethet.

Eredményeink szerint a lokális hyperglykaemia nem befolyásolta az extrasystolék megjelenésének időpontját. Ennek feltehetően az az oka, hogy a magas vércukor koncentráció okozta változások nem akut hatásként jelentkeznek, a diabeteses komplikációk kifejlődéséhez hosszú időre van szükség.

Kísérletünkben a kamrai arrhythmiaiák az infúzió kezdetéhez képest hamarabb jelentek meg cukorbeteg állatokban, ami alátámasztja a diabeteses szív arrhythmogen anyagokkal szemben fennálló fokozott érzé-

kenységét. Ugyanakkor a kamrafibrillációk számában és a vizsgálatok fibrilláció miatti befejezéséig eltelt időben nem volt különbség az egyes csoportok között.

#### **KÖVETKEZTETÉSEK**

A diabeteses szív érzékenyebben reagál az arrhythmogen hatásra, melyet alacsony dózisu intracoronariásan bejuttatott ET-1-el idéztünk elő.

A lokális hyperglykaemia önmagában nem tekinthető arrhythmogen faktornak, a hosszas fennállása következtében kialakult kóros elváltozások azonban érzékenyítik a szívet az arrhythmogen hatásokra.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- A humán gyakorlatban alkalmazott inzulinérzékenyítő metformin kutyában is csökkenti az etetés utáni vércukorszintet.
- Az endothelinrendszer másképp reagál akut haemodinamikai terhelésre alloxan indukálta diabetezes és metabolikusan egészséges kutyában.
- Diabetezes kutyákban a perifériás vérplazma ET-1 szintjének csökkenése akut haemodinamikai terhelés hatására feltehetően egy adaptációs válasz, mivel csökkenti a vasospasmus és az arrhythmia kialakulásának lehetőségét.
- A diabetezes szív érzékenyebben reagál arrhythmogen hatásra, melyet alacsony dózisu intracoronariásan bejuttatott ET-1-el idéztünk elő.
- A lokális hyperglykaemia önmagában nem tekinthető arrhythmogen faktornak, a hosszas fennállása következtében kialakult kóros elváltozások azonban érzékenyítik a szívet az arrhythmogen hatásokra.

## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

PÓSA I., HORKAY F., SERES L., SKOUMAL R., KOVÁTS T.,  
**BALOGH É.**, DECHATEL R., TÓTH M., KOCSIS E.: Effects of  
experimental diabetes on endothelin-induced ventricular arrhythmias in  
dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004. 44. 380–382.

SKOUMAL R., SERES L., SOÓS P., **BALOGH É.**, KOVÁTS T.,  
RYSÁ J., RUSKOÁHO H., TÓTH M., HORKAY F.: Endothelin levels  
in experimental diabetes combined with cardiac hypertrophy. *J. Cardio-  
vasc. Pharmacol.* 2004. 44. 195–197.

**BALOGH É.**: Oralis antidiabetikumok kutyák és macskák diabetes  
mellitusának kezelésében. Review. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 2006.  
128. 395–401.

**BALOGH É.**: Cukorbetegség következtében kialakuló szövődmények  
emberben, kutyában és macskában. Review. *Magyar Állatorvosok Lap-  
ja.* 2006. 128. 655–663.

**BALOGH É.**, TÓTH M., BÖLCSHÁZY G., ABONYI-TÓTH ZS.,  
KOCSIS E., SEMJÉN G.: Evaluation of oral hypoglycaemic drugs in  
alloxan-induced diabetes mellitus in dogs. *Acta Veterinaria Brno.* 2008.  
77. 349–357.

## IRODALOM

1. BALFOUR J.A., MCTAVISH D.: Acarbose: an update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus. *Drugs*. 1993. 46. 1025–1054.
2. BOSWOOD A., DUKES-MCEWAN J., LOUREIRO J., JAMES R.A., MARTIN M., STAFFORD-JOHNSON M., SMITH P., LITTLE C., ATTREE S.: The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *J. Small Anim. Pract.* 2008. 1. 26–32.
3. CARDILLO C., CAMPIA U., BRYANT M.B., PANZA J.A.: Increased activity of endogenous endothelin in patients with type II diabetes mellitus. *Circulation*. 2002. 14. 1783–1787.
4. CONIFF R.F., SHAPIRO J.A., SEATON T.B.: A double-blind placebo controlled trial evaluating the safety and efficacy of acarbose for the treatment of patients with insulin-requiring type II diabetes. *Diabetes Care*. 1995. 18. 928–932.
5. COOPERSTEIN S.J., WATKINS D.: *The Islets of Langerhans*. Academic Press. New York. 1981.
6. DIMITRIADIS G.D., TESSARI P., GO V.L.W.: Alpha-glucosidase inhibition improves postprandial hyperglycaemia and decreases insulin requirements in insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1985. 34. 261–265.



7. GERARD J., LUYCKX A.S., LEFEBVRE P.J.: Improvement of metabolic control in insulin dependent diabetics treated with the alpha-glucosidase inhibitor acarbose for two months. *Diabetologia*. 1981. 21. 446–451.
8. HADDAD F., HUNT S.A., ROSENTHAL D.N., MURPHY D.J.: Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: Anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. Review. *Circulation*. 2008. 11. 1436–48.
9. HORKAY F., SZOKODI I., MERKELY B., SOLTI F., GELLÉR L., KISS P., SELMECI L., HORVÁTH I., KÉKESI V., JUHÁSZ-NAGY A., TÓTH M.: Potential pathophysiologic role of endothelin-1 in canine pericardial fluid. *J. Cardiovasc. Pharmacol*. 1998. 31S. 401–402.
10. KIM S., IWAO H.: Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol. Rev.* 2000. 52. 11–34.
11. LAKÓ-FUTÓ Z., SZOKODI I., SÁRMÁN B., FÖLDES G., TOKOLA H., ILVES M., LESKINEN H., VUOLTEENAHO O., SKOUMAL R., DECHATEL R., RUSKOAHO H., TÓTH M.: Evidence for functional role of angiotensin II type-2 receptor in the cardiac hypertrophic process in vivo in the rat heart. *Circulation*. 2003. 108. 2414–2422.
12. LENHARD J.M., KLIEWER S.A., PAULIK M.A., PLUNKET K.D., LEHMAN J.M., WEIEL J.E.: Effects of troglitazone and

- metformin on glucose and lipid metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 1997. 54. 801–818.
13. MOE G.W.: B-type natriuretic peptide in heart failure. *Curr. Opin. Cardiol.* 2006. 3. 208–214.
  14. RIOS M.S.: Acarbose and insulin therapy in type I diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Invest.* 1994. 24. 36–39.
  15. ROBERTSON J., NELSON R., KASS P., NEAL L.: Effects of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose on postprandial serum glucose and insulin concentrations in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1999. 60. 541–545.
  16. RUSKOaho H., LESKINEN H., MAGGA J., TASKINEN P., MANTYMAA P., VOULTEENAHO O., LEPPALUOTO J.: Mechanisms of mechanical load-induced atrial natriuretic peptide secretion: role of endothelin, nitric oxide, and angiotensin II. *J. Mol. Med.* 1997. 75. 876–885.
  17. SADOshIMA J., XU Y., SLAYTER H.S., IZUMO S.: Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell.* 1993. 75. 977–984.
  18. SCHELLENBERG S., GRENAChER B., KAUFMANN K., REUSCH C.E., GLAUS T.M.: Analytical validation of commercial immunoassays for the measurement of cardiovascular peptides in the dog. *Vet. J.* 2008. 1. 85–90.

19. SHIBA R., YANAGISHAWA M., MIYAUCHI T.: Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation in the rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1989. 13S. 98–101.
20. STUMVOLL M., NURJHAN N., PERRIELLO G.: Metabolic effects of metformin in non-insulin dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1995. 333. 550–554.
21. SZOKODI I., HORKAY F., KISS P., SELMECI L., HORVÁTH I., VOULTEENAHO O., RUSKOAHO H., JUHÁSZ-NAGY A., TÓTH M.: Characterization of canine pericardial fluid endothelin-1 levels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. 31S. 399–400.
22. TÓTH M., SOLTÍ F., MERKELY B., KÉKESI V., HORKAY F., SZOKODI I., JUHÁSZ-NAGY A.: Ventricular tachycardias induced by intracoronary administration of endothelin-1 in dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995. 26S. 153–155.
23. YAMAZAKI T., KOMURO I., YAZAKI Y.: Molecular mechanism of cardiac cellular hypertrophy by mechanical stress. *J Mol. Cell. Cardiol.* 1995. 27. 133–140.
24. YORIKANE R., KOKIE H., MIYAKE S.: Electrophysiological effect of endothelin-1 on canine myocardial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1991. 17. 159–162.