

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Az anyai és a magzati glükóz homeostasis változása vemhesség során kutyában

Készítette: Mostbacher Andrea

Témavezető: Dr. Thuróczy Julianna
SZIE-ÁOTK, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Budapest
2011

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Irodalmi áttekintés	4
3. Anyag és módszer	25
3.1 A vizsgálatban résztvevő állatok	25
3.2 Mintavétel.....	27
3.3 A minta vizsgálata	28
4. Eredmények	30
4.1 Vemhes szukák.....	30
4.2 Nem vemhes szukák	32
4.3 Magzatok	32
5. Megbeszélés	36
5.1 Vemhes szukák.....	36
5.2 Nem vemhes szukák	37
5.3 Magzatok	38
6. Összefoglalás	41
7. Melléklet	42
8. Summary	44
9. Irodalomjegyzék	45
Köszönetnyilvánítás.....	49

1. Bevezetés

Szakedolgozatomban a kutya vemhessége alatt létrejövő hormonváltozások glükóz anyagcserére kifejtett hatásával foglalkozom. A vemhesség fő hormonja a progeszteron, amely a tejmirigyben a növekedési hormon szintézisét serkenti. A növekedési hormon inzulin-antagonista, ezáltal mérsékli az inzulin vércukor csökkentő hatását. A következmény a vemhességi cukorbetegség kialakulása lehet, mely az ellés után megoldódhat, vagy állandósulhat. A sejtek inzulin érzékenységének csökkenésében, majd az inzulin rezisztencia kialakulásában a növekedési hormon mellett, a tumor nekrozis faktor-alfának tulajdonítanak szerepet. Az inzulin rezisztencia oka – a tudomány mai állása szerint – nem az inzulin szekréciójának megváltozásában, és nem az inzulin-receptorok számának csökkenésében keresendő, hanem egy posztreceptorális mechanizmusban.

A szakirodalom több faj esetében említi a vemhességi cukorbetegség kialakulásának lehetőségét. A legtöbb kísérletet patkányokon és egereken végezték, melyben a szülő cukorbetegségének utódokra kifejtett hatása is vizsgálatra került. Emberek esetében is egyre gyakrabban fordul elő ez a betegség, ezért az inzulin-rezisztencia celluláris mechanizmusának pontos ismerete – amely egyelőre még nem teljesen tisztázott – egyre inkább a figyelem középpontjába kerül. Ez azért is fontos, mert egy cukorbeteg anya gyermekei gyakran fejlődési rendellenességgel születnek.

Kutyák esetében a vemhességi cukorbetegség nem gyakran kerül megállapításra, ami nem jelenti azt, hogy nem gyakori. Az enyhébb tünetek ugyanis sokszor figyelmen kívül maradnak. A kutyák ivari ciklusának sajátosságából kifolyólag a vemhesség alatt kialakuló cukorbetegség manifesztációjának esélye a nem vemhesült, de metősztuszban lévő szukákban is megvan. A metősztuszban lévő állatok hormonprofilja, pontosabban a progeszteron koncentráció alakulása, ugyanis nagyon hasonló a vemhes állatokéhoz. A szukákra vonatkozóan nem áll rendelkezésünkre olyan sok szakirodalmi adat, mint például a patkány vagy az ember esetében. Ezért is került sor ennek a dolgozatnak az elkészítésére.

A vizsgálataim célja, hogy megállapítsam milyen összefüggés áll fenn a progeszteron, a glükóz, és az inzulin koncentrációk változásaiban a kutya vemhessége alatt, illetve ezen paraméterek hogyan változnak a magzati korban. A vizsgált állatok az Állatorvos-tudományi Egyetem Szülészeti Klinikájának betegei közül kerültek ki.

2. Irodalmi áttekintés

A szénhidrát-anyagcsere alapmolekulája egy hat szénatomos monoszacharid, a glükóz. A glükóz az energiatermelés fő forrása. Néhány szövet a monoszacharidokból raktár poliszacharidot, főként glikogént képes építeni. Az energiaszükséglet fedezésére ebből újra glükóz keletkezhet, így lehetőség van arra, hogy a szervezet állandó szinten tartsa a vér glükóz koncentrációját. Az agy, a fehér-, és a vörösvérsejtek csak glükózt képesek metabolizálni, de minden sejtnak szüksége van glükózra a normális anyagcsere fenntartásához, így az állandó vércukor koncentráció fenntartása létfontosságú feladata a szervezetnek. A máj a glükóz-háztartás meghatározó szerve.

Az állati szervezet, vagy a táplálékkal veszi fel a szükséges glükózt, vagy szintetizálja azt. A táplálékkal felvett glükóz a vékonybélből felszívódva a májba kerül, ahol a szükséglettől függően, vagy glikogén formájában raktározódik, vagy a vérbe kerül. A vér által jut el a különböző szervekig, szövetekig. A szövetektől függően négy különböző glükóz-hordozó (GLUT) molekula található meg a szervezetben, amely a sejtek glükóz felvételében játszanak szerepet. A GLUT lehetővé teszi a glükóz facilitált transzportját a különböző sejtekbe. GLUT-1 található a vörösvérsejtek és az agysejtek membránjain, GLUT-2 a máj és a vese sejtjein, GLUT-3 az agyban, és GLUT-4 az izom- és zsírszövet sejtjein. A négy típus közül csak a GLUT-4 inzulin dependens, azaz a glükóz felvétele ezen hordozó esetén függ az aktuális inzulin koncentrációtól. A többi típus esetében az adott sejt az inzulin koncentrációtól függetlenül veszi fel a glükózt a vérből.

A glükóz anyagcsere több biokémiai folyamatból tevődik össze, melyeknek a lényege a vér állandó glükóz koncentrációjának biztosítása.

A glikogenezis (GG) az a folyamat, mely során a glükózból glikogén keletkezik. Erre a folyamatra a májon kívül az izom- és szívizomszövet is képes.

A glikogenolízis (GGL) során a glikogénből keletkezik glükóz, azaz alacsony vércukor szint esetén ez a folyamat kerül előtérbe. Vércukor képzésére csak az a szövet képes, ahol megtalálható a glükóz-6-foszfátáz enzim, ilyen szerv a máj és kisebb mértékben a vese.

A glikolízis (GL, Embden-Meyerhof-lánc) a glükózból való energia felszabadítását jelenti, mely lehet aerob vagy anaerob folyamat az adott szövetből függően. Anaerob körülmények között laktát képződik. Ez játszódik le a vörösvérsejtekben és az izomban. Aerob körülmények között piruvát keletkezik a glükózból.

A glükoneogenezis (GNG) során az izomban és a vörösvérsejtben keletkezett laktát visszakerül a májba, ahol ismét glükózzá alakul, megelőzve azt az energiavesztést,

melyet a laktát vesén keresztüli kiürülése jelentene. A vázolt körforgást Cori-körnek is nevezik. A GNG azonban nem csak a laktátból való glükóz képzést jelenti, hanem minden olyan folyamatot, mely során nem szénhidrát-szerű vegyületekből (aminosav, glicerin, stb.) keletkezik glükóz. Erre az átalakításra csak a máj képes, mert benne található meg azok az enzimek, melyek nélkülözhetetlenek a GNG-hez. Egyik ilyen enzim, amely csak a májban található meg, a foszfoenolpiruvát-karboxikináz (PEPCK), amely a piruvát glükózzá való átalakításához elengedhetetlen.

A felsorolt anyagcsere utakon kívül nagy jelentősége van a pentóz-foszfát ciklusnak is, amely során a glükózból öt szénatomos pentóz keletkezik, amely bekapcsolódhat a nukleotid szintézis folyamatába. Ez a ciklus minden szövetben zajlik, de legnagyobb aktivitással a májban, a zsírszövetben és a működő tejmirigyben (SILBERNAGL - DESPOPOLUS, 1996).

A glükóz metabolizmus szigorú hormonális és idegi szabályozás alatt áll. A legfőbb szabályozó hormon az inzulin és a glukagon. Mindkét hormont a hasnyálmirigy Langerhans-féle szigetei termelik. Ezen a területen – amely a hasnyálmirigy kb. 3%-át teszi ki – négyféle sejttípus található: alfa-, béta-, delta-, és F-sejtek. Az alfa-sejtek a glukagont, a béta-sejtek az inzulint, a delta-sejtek a szomatosztatint, az F-sejtek a pankreatikus polipeptidet (PP) termelik. A sejtek között parakrin szabályozási kör működik. A béta-sejtek inzulin szekréciója negatívan hat az alfa-sejtek glukagon szintézisére, így a hiperglikémia normalizálása hatékonyabban megy végbe. Hipoglikémia esetén az alfa-sejtek a glukagon termelése mellett, pozitívan hatnak a béta-sejtek inzulin elválasztására, így mintegy előkészíti a szervezetet a saját hormonja által kiváltott hiperglikémia kompenzálására. Az alfa-sejtek egyúttal a delta-sejtek szomatosztatint szekrécióját is serkentik, amely mind az inzulin, mind a glukagon túlprodukciónak akadályozza meg. A hormonok termelődését elsősorban a hasnyálmirigyen átáramló vér glükóz és aminosav szintje szabályozza, de szabályozó szerepe van az autonóm idegrendszernek is.

A glükóz vérbeli koncentrációját az inzulin és a glukagon mellett a növekedési hormon (growth hormone/GH) is befolyásolja. A GH az adenohipofízisben termelődő polipeptid. Ez egyrészt serkenti a glukagon felszabadulását, másrészt közvetetten növeli a zsírszövetben a lipolízist, így az izomszövetnek alternatív energiát biztosít a plazmabeli megnövekedett zsírsav koncentráció lévén, így az izomszövet zsírsavat éget glükóz helyett. Emellett anti-inzulin hatása miatt csökkenti a zsírszövetbe történő inzulin-függő cukorbelépést. A növekedési hormon tehát diabetogén hatású, anti-inzulin és glukagon-agonista hatásánál fogva növeli a vércukorszintet.

A hasnyálmirigy béta-sejtjeinek inzulin szekréciója bifázisos, az inzulin felezési ideje 10 perc. A béta-sejten található GLUT-2 transzporter magas vércukor koncentráció esetén nagy mennyiségű glükózt juttat a sejtbe. Ennek következtében, egyrészt a magas gluko-kináz aktivitás miatt megnő a sejtben a glükóz-6-foszfát koncentrációja, amely közvetlenül serkenti az inzulin termelését. Másrészt a sejtbe jutott glükóz nagy hányada ATP-vé alakul, amelynek hatására záródnak az ATP-érzékeny kálium-csatornák, és depolarizáció jön létre. A depolarizáció hatására a sejtbe kalcium jut be, amely előidézi az inzulinraktárak azonnali ürülését.

Az inzulin receptor két alfa-alegységből áll, amely szinte minden sejt sejtmembránján megtalálható. A szervezetben hét különböző inzulin-receptort találtak eddig, a legjelentősebb az izomban található 4-es szubtípus. A hormon alfa alegységhez kötődése konformáció változást vált ki az intracellulárisan helyeződő béta-alegységen, mely a tirozin-kináz rendszer aktivációját okozza. Ez az aktiváció felelős valamennyi hormon-hatásért. Az inzulin hatása a különböző anyagcsere folyamatokra sokrétű. A szénhidrát-anyagcserében a vércukor szintet csökkenti, mivel fokozza a sejtek inzulin-függő glükóz felvételét, a májban fokozza a GG-t, és csökkenti a GNG-t. A lipid metabolizmus kapcsán csökkenti a lipolízist, növeli a lipogenezist. A fehérje anyagcserében minden sejt aminosav felvételét serkenti a máj kivételével, fokozza a fehérje szintézist (RUDAS - FRENÝÓ, 1995).

A hasnyálmirigy Langerhans szigetei az endodermából fejlődnek. Ezek a szigetek a születés után is képződnek, de működésük már a magzati korban, a magzat fejlődésének második harmadában kimutatható, és képesek pótolni az anya hormonhiányát (FEHÉR, 2000).

A hasnyálmirigy endokrin részének működészavarából kiinduló inzulin-hiány okozza a cukorbetegséget, azaz a *diabetes mellitust* (DM). A betegségnek 2 alaptípusa van. Az 1. típus abszolút inzulinhiány miatt alakul ki, tehát az inzulin termelése csökkent, amely lehet szerzett és veleszületett is. Ez az inzulin-függő DM (inzulin dependens DM/IDDM). A 2. típust relatív inzulinhiány okozza, melynek oka lehet receptor blokádnak vagy inzulin-antagonisták felszaporodása a szervezetben. Ez a típus nem inzulin-függő (nem inzulin dependens/NIDDM), mivel nem az inzulin jelenléte hiányzik, hanem a hatása csökkentettségű. A DM egyik változata a vemhességi cukorbetegség, azaz a gesztációs DM (GDM), mely a vemhesség során kialakult inzulin-rezisztencia következménye. A DM tünetei: hiperglikémia, következményes glükózúria, ozmotikus diurézis, következményes polidipszia, ketonémia, ketonúria, ketoacidózis, zsírmáj (SILBERNAGL - DESPOPOLUS, 1996).

Kutyában a GDM a progeszteron magas vérbeli koncentrációjával van összefüggésben. Kutya fajban éretlen, a meiózis II. profázisában lévő petesejtek szabadulnak ki az ovuláció során. A megtermékenyülés a petevezetőben történik, majd 9 nappal később a megtermékenyült petesejt(ek) a méh üregébe lépve a transzuterin migráció során még mintegy 5-7 napig vándorolnak (FELDMAN – NELSON, 2004). Kutyában a zigóta implantációja a 17.-18. napon következik be. Placenta zonaria fejlődik ki, a méhlepény endoteliochóriális. Az allantois teljesen körülnövi a magzatot. „A placentának glükogéntartalma és aktív glükóz-6-fosztatáz rendszere van, amely a glükogént glükózzá alakítja át. A glükóz részt vesz a magzat táplálékellátásában. A placenta a vemhesség korai időszakában glükogénben gazdagabb, mint magzati korban. A vemhesség végén a placenta glükózt már nem tartalmaz és a glükóz-6-foszfataz rendszere is hiányzik.” (FEHÉR, 1987). Az amnion üregét az amnion folyadék, a magzatvíz tölti ki. A magzatvíz mennyisége a vemhesség közepéig növekszik, majd fokozatosan csökken, közben állandóan cserélődik az anya és az amnion között. Később azonban a magzat szervezetén belül történik a magzatvíz cserélődésének 40 %-a. A magzatvíz főként lipidet, fehérjét, és glükózt tartalmaz (FEHÉR, 1987).

Az ovuláció után a progeszteront (P₄) a sárgatest termeli a nem vemhesült és vemhesült kutyákban is, így a progeszteron koncentrációjának mérése nem használható a vemhesség megállapítására. A progeszteron az LH csúcstól számítva a 30. napig növekszik, onnantól fokozatosan csökken a metösztrosz vagy a vemhesség végéig. Koncentrációja 10-70 ng/ml. A metösztrosz akkor fejeződik be, amikor a P₄ koncentrációja lecsökken olyan szintre, amely képtelen a vemhesség fenntartására, ez a koncentráció < 1-2 ng/ml. A vemhesség 2. felében a prolaktin (PRL) segíti a vemhesség fenntartását. A prolaktint az adenohipofízis termeli. A PRL luteotróp hatású, és az ellés után is magas marad a szintje a kölykök szoptatása következtében. Az ösztrogén szintje alacsony marad a vemhesség alatt, csupán az ellés körüli napokban növekedik kissé, amely növekedés a tejelválasztást és az ellést készíti elő. Koncentrációja a proösztroszban és az ösztrosz elején számottevő. A vemhesség fő hormonja a progeszteron, annak hirtelen csökkenése a 30. nap előtt az embriók felszívódásához, azon túl vetéléshez vezet (FELDMAN - NELSON, 2004).

A vemhesség mesterségesen is fenntartható progeszteronnal. A progeszteron koncentrációnak 2 ng/ml felett kell lennie a vemhesség megmaradásához, ez biztosítja az endometrium fejlődését, és az endometriális mirigyek szekrécióját, a placenta kialakulását.

Vemhesség alatt a progeszteron megnövekedett koncentrációja a tejmirigyek növekedési hormon *de novo* szintézisét serkenti. A növekedési hormon anti-inzulin hatásánál fogva inzulin-rezisztenciát okoz, melynek hiperglikémia a következménye. Ezt a hatást

vemhes és nem vemhes szukákban is megfigyelték, melynek eredményeként cukorbetegség is kialakulhat (VERSTEGEN-ONCLIN - VERSTEGEN, 2008). Az inzulin érzékenység kb. 43%-kal csökken a vemhesség kései szakaszában szukákban (JOHNSON, 2008). Az anyai inzulin-rezisztencia vemhesség alatt sok fajnál került kimutatásra, beleértve az embert és a kutyát is, és nagy hatással van a magzati fejlődésre (FALL, et al., 2008).

Egy tanulmány szerint a terhesség alatt a Langerhans szigetek sejtjeinek tömegének növekedése egy adaptív válasz az inzulin-rezisztencia leküzdése érdekében. A prolaktin ugyanis növelni tudja a béta-sejtek proliferációját és az inzulin szekréciót *in vitro*. Kísérletet végeztek annak felderítésére, hogy a prolaktin receptor (PRLr) mennyiben határozza meg a normál anyai glükóz homeosztázist a terhesség alatt. A kísérlet alapján intraperitoneális glükóz-tolerancia tesztet hajtottak végre PRLr +/+ és heterozigóta PRLr +/- vemhes egereken a 0., 15., 18. napon. Az eredmények szerint a PRLr +/- egyedekben károsodott a glükóz klírens, csökkent a glükóz stimulálta inzulin kibocsátás, magasabb glükóz és alacsonyabb inzulin szint volt jellemző. A PRLr +/+ egerekben jelentősen növekedett a szigetsejtek denzitása és a béta-sejtek száma a vemhesség során, ellentétben a PRLr +/- szemben. A PRLr +/+ egerekben erőteljesebb béta-sejt proliferáció zajlott, míg nem volt különbség az apoptózis szempontjából a két genotípus között. Ez az első *in vivo* demonstrációja annak, hogy a vemhességi hormonok a PRLr-on keresztül hatással vannak a béta-sejtekre, így az anyai glükóz homeosztázisra (HUANG, et al., 2009).

A GDM alatt, ha a béta-sejtek túlműködése nem vezet azok kifáradásához, akkor van esély a felgyógyulásra. Ellenben, ha túlzott volt a kompenzációs működésük, és nagy részük elpusztult, a vemhesség után a cukorbetegség állandósulhat. Ezért a következő vemhesség alkalmával nagy az esély az inzulin-dependens DM kialakulására (Feldman - Nelson, 2004).

2007-ben Junying Han és munkatársai kísérleteket végeztek patkányokban, annak kiderítésére, hogy az anyai cukorbetegség milyen hatással van az újszülöttek hasnyálmirigyének béta-sejtjeire. Az anyapatkányok cukorbetegségét streptozotocinnal (STZ) idézték elő, amely egy béta-sejt károsító vegyület. Az eredmények szerint az anyák vércukor koncentrációja nem mutatott jelentős különbséget a nem kezelt kontroll csoportéhoz képest, habár a vemhesség végén hiperglikémia alakult ki, amely az ellés után meg is szűnt. Az STZ-vel kezelt patkányok testsúlya azonban jelentősen csökkent a vemhesség 2. és 3. hetére. Az újszülöttek száma, testsúlya alacsonyabb volt, mint a kontrollcsoporté. A kezelt anyák utódai kezdetben hipoglikémiások voltak, mely a választás után normalizálódott. Az újszülöttek inzulin elválasztásának vizsgálatára két különböző mennyiségű glükózt adagoltak az izolált hasnyálmirigy szövethez. Az alacsony koncentrációjú glükóz adásakor nem tapasztaltak

jelentős eltérést a két csoport között. Magasabb glükóz koncentráció esetén viszont jelentősen csökkent az inzulin elválasztás a kontrollcsoporthoz képest. A kezelt újszülött állatok hasnyálmirigyében a glükóz-felhasználás is csökkent, ahogy a glükóz metabolizmusáért felelős enzimek koncentrációja is. A hasnyálmirigy morfológiailag nem mutatott eltérést a két csoport között. Valószínű, hogy a csökkent enzim aktivitás tehető felelőssé a béta-sejtek diszfunkciójáért (HAN, et al., 2007).

A magzatot burkoló amnionburok epitelsejtekéből és mezenchimális sejtekből áll, amelyek multipotens sejtek, így differenciálódó képességük nagy. *In vitro* kísérlettel igazolták, hogy az amnion epitelsejtek képesek inzulin termelő sejtekké differenciálódni. *In vivo* STZ-vel kezelt diabéteszes egerekbe ültetve amnion epitelsejtből álló implantátumot, azok vércukor koncentrációja normalizálódott a beültetés után néhány héttel. Ez bizonyítja, hogy az amnion epitelsejtek megvan azon képessége, hogy inzulin szekretáló béta-sejtté differenciálódjon (WEI, et al., 2003).

A patkánykísérletekben a cukorbeteg anyáktól származó utódok hasnyálmirigyének béta-sejtei tekintetében elég ellentmondásos eredmények születtek. Egyik kísérlet szerint egy enyhe cukorbeteg anyának az utódaiban az anyai hiperglikémia váltotta ki a hasnyálmirigy béta-sejtjeinek magas sejttségét, míg a súlyos cukorbeteg anya utódaiban a béta-sejtek száma csökkent volt és a sejtek degranuláltak. Egy másik kísérletben a felnőtt utódokat vizsgálták. Az enyhe cukorbeteg anya felnőtt utódaiban csökkent inzulin szekréció, míg a súlyos cukorbeteg anyából származó felnőtt utódokban megnövekedett inzulin szekréció volt a jellemző. Az eredmények nem egyértelműek, az azonban kijelenthető, hogy az anyai cukorbetegség számos metabolikus és funkcionális betegséget okozhat az utódok hasnyálmirigyében, amely közreműködhet egy felnőttkori NIDDM kialakulásában (HAN, et al., 2007).

18 és 21 napos patkány magzatok glükózra adott inzulin válaszát vizsgálták *in utero*. Az anyáknak adott glükóz infúzió hiperglikémiát okozott a magzatokban a 21. napra, de a vércukor koncentrációjuk sosem haladta meg az anyjukét. A glükóz infúzió hatására a plazma inzulin koncentrációja is megnőtt, mind az anyában, mind a magzatokban. Az inzulin koncentráció növekedése már a 18. napon mérhető volt, és a 21. napig növekedett (KERVRAN - GIRARD, 1974).

A korai embrió stádiumban patkányokon bizonyították, hogy a glikolízis anaerob módon megy végbe. Ahogy a nukleinsav ellátás biztosítottá válik, a pentóz-foszfát-ciklus is aktívvá válik ebben a periódusban. Később a glükóz felhasználással arányosan csökken a laktát termelés, ahogy az anaerob glikolízist felváltja az aerob Krebs' ciklus. Ez a magzati

vérkeringés kifejlődésének köszönhető, amely az oxigént szállítja. Patkány magzat esetében a magzati vérkeringés kifejlődése kb. 10,5 napos korra történik meg (SHEPARD, et al., 1997). Ezt bizonyítja az a kísérlet is, amely patkány embriók glükóz metabolizmusát vizsgálta a 10. és a 11. vemhességi napon intakt embriókon és izolált embriókon is, illetve azok aminonburkán. Az anaerob glikolízis hányada magas volt a 10. napon az embrióban és a burokban is, amely a 11. napra egyharmadára csökkent. A glikolízis mindig jelentősebb volt a burkokban, mint magában az embriókban. Az oxidatív glikolízis alacsony volt a 10. napon, és 11. napra jelentősen megnőtt a hányada az anaerob glikolízishez képest. A pentóz-foszfát ciklus is hasonlóképpen alakult, mint az aerob glikolízis. Az eredmények azt mutatják, hogy a magzati vérkeringés a 10,5. vemhességi napon fejlődik ki (AKAZAWA, et al., 1994). Patkány embrió amnion folyadékát vizsgálva megállapították, hogy 10 napos korban a glükóz koncentráció $1,5 \text{ mmol/l} \pm 0,089 \text{ mmol/l}$, és ez a 20. napig nő, majd hirtelen lecsökken. 10, 11, és 16 napos embriókat vizsgáltak 0°C és 38°C inkubáció alatt. 0°C -on a 10 és 11 napos embrióban, illetve 38°C -on a 16 napos embrióban nem mértek jelentős glükóz koncentráció csökkenést. Ellenben 38°C -on a 10 napos embrió amnion folyadékában 22 perc alatt, míg a 11 napos embrió amnion folyadékából 34 perc alatt kimutathatatlaná vált a glükóz koncentráció. Ezek a mérések azt mutatják, hogy a 10 napos embrió glükóz felhasználása jelentős, amely fokozatosan csökken 16 napos korig (PARK - SHEPARD, 1994).

Az amnion folyadék összetétele nagyon fontos az idegrendszer normális kifejlődése szempontjából. Az amnion folyadékban lévő glükóz, illetve annak metabolizmusa elengedhetetlen a magzat fejlődéséhez. A legnagyobb glükóz felhasználás a patkány magzat részéről 10-16 napos korban jelentkezik, amikor a neuralizáció, az idegrendszer kifejlődése történik (PARK, 1997).

In vitro patkány embriókon végzett kísérletek igazolták, hogy a hiperglikémiás környezetben a glükóz felhasználás és a laktát termelés nagyfokú. Az embriók folyamatos anaerob glikolízist folytatnak. Ezeket az embriókat hipoglikémiás környezetbe helyezve fejlődési rendellenességet mutattak a glikolízis alacsony hatásfoka mellett (AKAZAWA, 2005).

Patkány magzatok GNG-re való képességét vizsgálták. A kísérlet lényege az volt, hogy 18-21 napos vemhes patkányokat éheztetettek 16 órán át, majd jelölt glükózzal infundálták őket. A cél az volt, hogy megállapítsák, azt, hogy a magzat vércukor koncentrációja el tud-e különülni az anyától éhezés során, és így fenntartani a normál magzati vércukorszintet. A korábbi kísérletek igazolták, hogy magzati korban a máj nem képes a GNG-re. Ezután a

méhlepényt vizsgálták meg ilyen szempontból, de bebizonyosodott, hogy a placentában nem található meg a foszfoenolpiruvát-karboxikináz, amely enzim pedig elengedhetetlen a GNG-hez. A jelen kísérlet során minimális fokú glikogenolízist véltek felfedezni a magzati májban, amely azonban nem elegendő a magzati vércukor szint fenntartásához. Így más glükóz forrást gyanítanak, amely az anya éhezése folyamán a magzatot védi a vércukor szint csökkenésétől (BOSSI - GREENBERG, 1972).

A GNG képességének a kifejlődése széles körben vizsgált téma. A rágcsálókról, nyulakról és juhokról készült tanulmányok azt állítják, hogy a GNG fejlődése jól összehangolt folyamat, mely a specifikus szabályozó enzimek genetikai transzkripciójával és kifejeződésével szabályozott. Ezeknek az enzimeknek a kifejeződése meghatározott időponthoz köthető. Emiatt, habár a magzat képes lenne a GNG-re, a piruvátból történő glükóz képzéséhez szükséges foszfoenolpiruvát-karboxikináz enzim szintje limitált a születésig. Azonban a humán kísérletek alátámasztják azt a tényt, miszerint a születés után a GNG képessége hamar kifejlődik, és eléri a glükóz produkció 70 %-t is (KALHAN - PARIMI, 2000).

Az első lépés a glükóz felhasználásához az intracelluláris transzport, mely glükóz-transzporterrel keresztül valósul meg. A GLUT-4 egy inzulin-függő transzporter a vázizomsejteken, a szívsejteken és a zsírsejteken, de minden sejten megtalálható kis mennyiségben. A vércukor szint növekedésével az inzulin szekréció fokozódik, miáltal a glükóz intracelluláris transzportja könnyebbé válik, és így csökken a vércukor szint. Amikor az energia-szükséglet alacsony, a glükóz glikogénként vagy zsírként tárolódik a zsírsejtekben, májban, izomban. Alacsony vércukor szint az inzulin szekréciót elnyomja és a glukagon, adrenalin, noradrenalin, növekedési hormon, kortizol koncentrációját növeli, amely által elősegíti a lipolízist, glükoneogenezist, glikogenolízist, aminek során nő a vércukor szint, a szabad zsírsav szint és a keton koncentráció a vérben.

A vemhesség hatással van a glükóz-szabályozó mechanizmusokra az inzulin rezisztencia kialakulása révén, amely a glükóz intracelluláris transzportját elnyomja, ezáltal relatív intracelluláris energia-hiányt okozva, és növelve a vércukorszintet. Szélsőséges esetben GDM alakulhat ki. Ebben a folyamatban fontos szerepe van a progeszteronnak, ösztadiolnak, növekedési hormonnak, placentális laktogénnek, citokineknek. Ez a relatív inzulin hiány okozza a zsírsejtekből való zsírsav mobilizációt, és a hepatikus zsírsav szintézistől az oxidációhoz való elmozdulást, illetve a ketogenezist. A GDM következtében alakul ki inzulin-rezisztencia a vázizom sejteken és zsírsejtekben, míg a májsejtek inzulin érzékenysége ép marad. A molekuláris háttere az inzulin rezisztenciának nem tisztázott, mivel

a GLUT-4 transzporter változatlan maradt terhes nők esetében és az inzulin-receptorhoz való kötődés is épnek bizonyult. Emiatt egy poszt-receptorális defektust feltételeznek a háttérben, ami az inzulin hatását blokkolja (JOHNSON, 2008).

Az inzulin rezisztencia velejárója a vemhességnek. Két faktor segíti elő, a progeszteron és a növekedési hormon, amelyek hasonló koncentrációban vannak jelen vemhes és nem vemhes metősztroszos szukákban is, habár a vemhes szukákban nagyobb mértékben jelentkezik a rezisztencia. Ennek következtében DM fejlődhet ki alkalmanként a metősztroszos nem vemhes szukákban, Feldman (2004) szerint 65 kutyából 5 kutya esetében. Általánosan elfogadott nézet szerint a GDM nem gyakori a vemhes szukákban. Több magyarázat született arra, hogy miért kevesebb a diagnosztizált GDM szukákban, mint nők esetében. Ezek egyike, hogy habár a nők esetében gyakran tünetmentes a betegség, de a rendszeres terhességi kontroll felfedi a betegséget, míg szukák esetében csak akkor kerül megállapításra, amikor már jelentkeznek a tünetek (FALL, et al., 2008).

A DM kialakulásának folyamata metősztroszos szukákban nagy hasonlóságot mutat a nők GDM-val, amely függ a kortól, és testsúlytól is. Amikor a vérglükóz koncentráció eléri a maximális reabszorpció kapacitást a proximális vesetubulusokban, glükózúria és ozmotikus diurézis alakul ki. Ez az ún. küszöb érték 10 mmol/l vércukor koncentrációnak felel meg. Emiatt poliúria és a vele járó kompenzációs polidipszia a leggyakoribb klinikai jele a DM-nak. A polifágia és a súlyvesztés a másik kettő gyakori tünete, habár ez vemhes szukákban nem feltűnő, mert az étvágy növekedése velejárója a vemhességnek. Végző esetben más tünetek dominálnak, ilyen például a gyengeség, a letargia, a hányás. Néhány esetben ketózis is előfordul. A GDM diagnózisa a kórelőzményi és fizikális adatokkal feltételezhető, melyet megerősít a folyamatos hiperglikémia és glükózúria ténye. A DM sok metabolikus zavart okoz, amelyeket mind fel kell tárnai a sikeres kezelés érdekében, beleértve a dehidrációt, ketózt, acidózt, és az elektrolit egyensúly zavarát. Rejtett húgyszervi fertőzés – ami szintén hozzájárulhat az inzulin-rezisztencia kialakulásához – gyakori cukorbeteg kutyákban, ezért indokolt a vizelet-vizsgálat.

Az anyai betegségeknek bármelyik fajtája hátrányosan hathat a magzatok egészségére. Emberek esetében a GDM növeli az anyai, magzati és újszülött kori morbiditást és mortalitást. A túlzott magzati növekedés (makroszómia) gyakori, és hozzájárul a császármetszéshez és a születési traumákhoz. A veleszületett fejlődési rendellenességek gyakoribbak, ha a vemhesség korai szakaszában alakul ki a GDM, de középidoes vemhesen vagy később kialakuló GDM kevésbé járul hozzá a fejlődési rendellenességek kialakulásához (JOHNSON, 2008).

A GDM nők esetében 2-12%-ban fordul elő. Habár nőknél a GDM általában nem jár a DM jellegzetes klinikai tüneteivel, de a következményei jelentősek lehetnek, úgy mint, makroszómia, császármetszés, újszülött kori hipoglikémia. A GDM általában megoldódik a szülés után, de a későbbiekben növeli az esélyét a 2. típusú DM kialakulására (FALL, et al., 2008).

A humán GDM előfordulásának gyakorisága az elmúlt 6-8 évben a kétszeresére emelkedett. A GDM során az inzulin szekréció nincs egyensúlyban az inzulin érzékenység csökkenésével, ami végül hiperglikémiához vezet. Az inzulin-rezisztencia kifejlődése a GDM patofiziológiájának legfontosabb összetevője. A korai terhesség alatt az inzulin szekréció növekedésével az inzulin érzékenység változatlan, vagy növekedett, míg a késői terhesség során az inzulin-rezisztencia kialakulásával az érzékenység lecsökken, és az inzulin mediálta glükóz felvétel 40-60 %-kal csökken a terhesség előtti időszakhoz képest (BARBOUR, et al., 2007).

Még nem teljesen tisztázott mechanizmus alapján a korai vemhesség szakaszában való zsír felhalmozódás összefügg az inzulin érzékenység változásával. Vemhes patkányokban a 7. vemhességi naptól a zsírsejtek glükózból való zsírsav-szintézise kétszeresére nőtt, míg a 20. vemhességi naptól a lipogenetikus aktivitásuk csökkent. A lipolízis és a lipogenezis inzulin érzékenységének vizsgálata során kiderült, hogy az inzulin érzékenység növekedésével a lipogenezis nő, míg a lipolízis csökken a korai vemhesség alatt. Ezzel szemben a késői vemhesség alatt az inzulin-rezisztencia a felelős az alacsonyabb anti-lipolítikus és lipogenetikus hatásért. Összefoglalva tehát a korai vemhességben a zsírszövet megnövekedett inzulin-érzékenysége hozzájárul a zsír felhalmozódáshoz, míg a késői vemhességben a zsírszövet inzulin érzékenységének csökkenése okozza zsírszövet lebomlását. A korai vemhességben az anyai zsírfelhalmozódás elegendő táplálékot tud biztosítani a magzatnak. Ha ez a folyamat gátolt, akkor kisebb magzatok fejlődnek, mint például a súlyos cukorbetegségben szenvedő vemhes patkányban is. Az eredmények azt jelzik, hogy a 7 napos vemhes patkányban az inzulin érzékenység nagyobb, mint a nem vemhes patkányokban glükóz-tolerancia teszt alapján.

Hasonló eredmények születtek nők terhességének vizsgálata során is. Az első trimeszterben megnövekedett inzulin-érzékenységet jól tükrözi az a vizsgálat, miszerint az 1. típusú diabéteszes terhes nők inzulin szükséglete átmeneti csökkenést jelez az első trimeszter alatt. Ahogy a terhesség halad előre, az inzulin-érzékenység úgy csökken, végül inzulin-rezisztencia alakul ki a terhesség utolsó szakaszában. Ez az inzulin-rezisztencia mind nőkben, mind patkányokban az inzulin-mediált glükóz felvétel 40-60 %-os csökkenését okozza a korai

terhességhez vagy a nem terhes állapothoz képest. Habár az inzulin rezisztencia kialakulása vemhesség során jól dokumentált, az alap mechanizmust – amely a zsírszövet inzulin-érzékenységét megváltoztatja a vemhesség alatt – nem ismerjük. Egyes kísérletek szerint az inzulin receptorok száma nem csökken a késői vemhesség során, és a károsodott inzulin receptor tirozin-kináz aktivitása okozhatja az inzulin-rezisztenciát. A korai vemhesség alatti megnövekedett inzulin-érzékenységet pedig – egyes kutatók szerint – egy posztreceptorális fehérje okozhatja. Azt is megállapították izolált patkány zsírsejteken, hogy a vemhesség a katekolamin-stimulálta lipolízisben 50 % csökkenést okoz, mind 7, mind 20 napos vemhes korban. A patkány zsírsejteken a katekolamin stimuláció a β_3 -adrenoceptorokon keresztül történik, amely során az adenilát-cikláz aktiválódik. A megfigyelések szerint a β_3 -adrenoceptorok száma több, mint 50%-kal csökkent a zsírsejteken mindkét (7., 20.) vemhességi napon (RAMOS, et al., 2003).

Újabb felismerések kerültek napvilágra, miszerint nők terhessége során a placenta által szekretált hormon-változások nem mutatnak közvetlen korrelációt az anyai inzulin rezisztencia kialakulásával a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- α) kivételével. A humán placentális laktogén (hPL) elválasztása terhesség alatt 30-szorosára növekedik, és ez a hormon a hasnyálmirigy inzulin kibocsátását indukálja. Egy másik terhességi hormon, a humán placentális növekedési hormon (hPGH) szintje 8-10-szeresére növekszik a terhesség alatt, és a terhesség 20. hetére az adenohipofízis által termelt GH helyét átveszi az anyai vérkeringésben. A hPGH a GH-hoz hasonlóan inzulin rezisztenciát okoz. Ennek az inzulin rezisztenciának a kialakulása legújabb ismereteink szerint a foszfatidilinozitol(PI)-3-kináz p85 α alegységének a hPGH által megnövekedett expressziójához kapcsolódik a vázizomzatban. A p85 α alegység negatív kompetítorként hat a PI-3-kináz p110 alegységgel való heterodimérré való alakulásában, így gátolja a PI-3-kináz aktivitását. (BARBOUR, et al., 2007).

A zsírsejtek által termelt faktorok, mint adipokinek váltak ismertté. Közéjük tartozik többek között az adiponektin, a leptin, a TNF- α . A TNF- α egy citokin, melynek szintje elhízott állatokban és emberekben – a kísérletek alapján – pozitív korrelációt mutatott a hiperinzulinémia szintjével. Frost és Lang (2005) *in vitro* patkány és emberi vázizom sejteken inzulin rezisztencia növekedését tapasztalták TNF- α infundálása után.

A TNF- α az inzulin receptor szubsztrát (IRS)-1 szerin foszforilációját növeli, és az inzulin receptor (IR) tirozin-kináz aktivitását csökkenti. Korábbi tanulmányok alapján megállapították, hogy a TNF- α plazma koncentrációja korrelált az inzulin érzékenység változásával a korai terhességtől kezdődően a késői terhességig (KIRWAN, et al., 2002).

Winkler és munkatársai (2002) a szérumban TNF- α koncentrációját hasonlították össze harminc GDM-es nő, harmincöt egészséges terhes nő, és huszonöt egészséges nem terhes nő esetében. Az eredmények szerint az egészséges terhes nők 3. trimeszterében mért érték magasabb volt, mint az 1. trimeszterben mért, illetve a nem terhes nőknél mért koncentrációk. A GDM-es nőknél mindig magasabb koncentrációt mértek, mint a másik két csoport esetében. Jelentős pozitív korrelációt találtak a terhességi diabétesz és a nem diabéteszes terhes nők szérumban TNF- α szintje között (WINKLER, et al., 2002).

Az adipokinek közül az adiponektint kizárólag a zsírszövetek szintetizálják. A plazma alacsony adiponektin koncentrációja korrelál az inzulin rezisztencia mértékével elhízott, és terhességi diabéteszes nők esetében (CSEH, et al., 2004). Az adiponektin egy endogén inzulin-érzékenyítő hormonnak tekinthető, amely fokozza a glükóz-felvételt a vázizomban, és csökkenti a hepatikus glükóz termelést. Az adiponektin koncentrációjának a csökkenése GDM esetében már bizonyított. A TNF- α és más gyulladáskeltő mediátorok gátló hatását igazolták az adiponektin transzkripciójában, ami magyarázatot adhat az alacsony adiponektin koncentrációra a GDM-es egyedekben (BARBOUR, et al., 2007).

Az inzulin-mediált glükóz-felvételt vizsgálták humán vázizomrostokon *in vitro*. A vizsgálatban terhes, nem terhes és GDM-es nőkből származó vázizomszövetet használtak. Az eredmények szerint a terhes nőkből származó izomszövetben 40%-kal csökkent a glükóz-felvétel, és 65%-kal GDM esetében. A GLUT-4 transzportereket vizsgálva nem találtak változást a terhes és GDM-es nők izomszövetében. Ez az eredmény összecsengett Garvey és Birnbaum (1993) eredményeivel, amelyben izolált gesztációs diabéteszes és terhes nőkből származó zsírszövetek glükóz-transzportját vizsgálták (BARBOUR, et al., 2007).

Az inzulinreceptorban a béta-alegység foszforilációját stimulálja az inzulin-kötődése az alfa-alegységhez. GDM esetében a foszforiláció tökéletlen, habár az IR száma és a receptorhoz való kötődés nem tér el az egészséges vemhes nőkben tapasztaltakhoz képest (Shao, et al., 2000). Emiatt egy receptoron belüli defektus az oka az inzulinreceptor-csökkenett érzékenységének. A bizonyítékok alátámasztják, hogy a tirozin-foszfataz csökkent aktivitása, mint az IR foszforilációját szabályozó enzim okozhatja a csökkent érzékenységet az inzulin iránt, emberekben és állatokban is (BARBOUR, et al., 2007).

Az inzulinreceptorokat alkalikus foszfatazzal kezelve, azt tapasztalták, hogy az inzulinmolekula képessége a tirozin-foszforilációjának aktiválására visszatért a normális szintre terhes nőkben, GDM esetében pedig jelentősen javult. A TNF- α gátolni képes az IR tirozin-foszforilációját, ezzel inzulinrezisztenciát kiváltva (SHAO, et al., 2000).

Az IR aktivitásában az intracelluláris szubsztrátoknak (IRS-1, IRS-6) van szerepük. Az IRS-1 fehérje szintje határozza meg a sejtszintű glükóz felvételt. Az IRS-1 az inzulin kötődése után megvalósuló enzimatikus reakciók eredményeként alakul ki. Az IRS-1 szintje GDM esetében 52%-kal csökken a kísérletek szerint, de a szülés után 6 héttel szintje normalizálódik a vázizomzatban (BARBOUR, et al., 2006). A glükóz felvétel csökkenésében a megnövelt szerin foszforilációnak van szerepe, amely csökkenti az inzulin stimulálta IR és IRS-1 tirozin foszforilációját és a PI-3-kináz aktivitását. A PI-3-kináz enzim alegysége a p85 α szabályozó alegység és a p110 katalizátor alegység. Ezen alegységek egyensúlyának megbomlása esetén az inzulin érzékenység megváltozik. A hPGH növeli a p85 α monomer expresszióját, így hozzájárul a PI-3-kináz aktivitásának csökkenéséhez, és a következményes inzulin rezisztencia kialakulásához. A zsírszövet terhesség alatti inzulin rezisztenciájában szintén szerepe van az IRS-1 fehérjének. A molekuláris változások a transzkripciós faktort, a peroxiszóma-proliferátor aktivált receptort (PPAR- γ) érintik. Ez a receptor szerepet játszik a zsírsejt differenciálódásában, az inzulin érzékenységben, lipogenezisben. Nem terhes nők zsírszövetét összehasonlítva terhes és GDM-es nőkével, ez utóbbi kettőben 40-50 % csökkenést tapasztaltak a PPAR- γ szintjében. Az a faktor, ami ezt előidézheti terhesség alatt, a gyulladáscsökkentő citokin, a TNF- α lehet (KIRWAN, et al., 2002). A növekedési hormonnál is kimutatták, hogy egerekben *in vitro* és *in vivo* körülmények között is szupresszálják a PPAR- γ mRNS-t (MASTERNAK, et al., 2005).

Patkánykísérletben a glükóz transzporterek ontogenezisének vizsgálata megállapította, hogy a magzati korban a barna zsírszövetben a GLUT-4 szintje magas. Születéskor ez lecsökken, de a hideg hatására ismét megnőhet a GLUT-4 száma a barna zsírszövetben. A magzat izomszövetében GLUT-1 jelenlétét tapasztalták, de a GLUT-4 hiányzott. A GLUT-4 megjelenése az izomszövetben az elválasztás után, az inzulin érzékeny szövet megjelenésével együtt történt. A szívizomban is a GLUT-1 volt megfigyelhető a magzati korban, de a választás után már GLUT-4 volt megtalálható. A májon GLUT-2 volt detektálva, amely expresszálása a magzati korban is folyamatosan növekedett. A májon ezen kívül GLUT-1 is megtalálható volt (POSTIC, et al., 1994).

Az amnion hólyagon elhelyezkedő glükóz-szállító molekulák, mint inzulin érzékeny receptorok vizsgálata során megállapították, hogy a GLUT-1 szállító fehérje minden amnion sejten megtalálható, míg a GLUT-3 transzporter csupán az amnion epitelsejtjein és a citotrofoblast sejteken. A GLUT-4 transzportert nem detektálták az amnion hólyagon (WOLF - DESOYE, 1993).

Az újonnan felfedezett GLUT-12 transzporter humán magzatburkon való kifejeződésének vizsgálata során azt az amnionburkon és a korioallantoiszon is megtalálták a GLUT-1 transzporterhez hasonlóan. Az amnionburok epitel-, és fibroblaszt sejtjein illetve a korion trofoblaszt sejtjein detektálták a GLUT-12-t, bár a GLUT-1-től eltérően, nem a sejtfelületen, hanem a citoplazmában. A GLUT-12-nek vélhetően a sejtek glükóz felvételének facilitálásában van szerepe (GUDE, et al., 2005).

Kísérlet történt az anyaméhben fejlődő magzat glükóz ellátásának és az anya glükóz termelésének a vizsgálatára. A kísérletben izotóppal megjelölt glükóz infúziót használtak. Az eredmények szerint a plazma glükóz koncentrációja a normál terhesség alatt csökkent a nem terhes nőkével szemben, viszont a teljes glükóz produkció 16%-kal nőtt. Ez azt jelenti, hogy az anyai szervezetben a glükóz eloszlása megváltozik a magzat glükóz -szükségletének a biztosítása érdekében (KALHAN, et al., 1979).

Az emberi hasnyálmirigy fiatal magzati korban kevésbé tud reagálni a glükózra, az inzulin szekréciója minimális vagy nincs is. Ennek a válaszkésztségnek a maturációját figyelték meg azon kísérletek kapcsán, amelyekben *in vitro* vagy cukorbeteg egérbe ültetett hasnyálmirigy szövetet reagáltattak glükózzal. Az *in vitro* eredmények szerint 25 hetes magzati hasnyálmirigy már reagált a glükóz stimulációra, és ez drasztikusan növekedett az 55. hétig. A cukorbeteg egerek közül egy egyed normoglikémiát mutatott egészen addig, amíg az 52 hetes hasnyálmirigy implantátumot el nem távolították, ezután a cukorbetegsége visszatért. A leírt eredmények alapján a humán magzat már 25 hetes korától képes inzulin termelésére (TUCH, et al., 1985).

A méhlepény glükóz-szállító mechanizmusa az anyai vércukor koncentrációtól függ, magát a szállító mechanizmust közvetlenül nem befolyásolja az anyai inzulin. A transzplacentális koncentráció grádiens a magzati inzulin és a placentális laktogén kontrollja alatt áll. Mindkét hormon növeli a koncentráció gradienst, a magzati inzulin a vércukor szint csökkentése által, a placentális laktogén szintén a magzati vércukor szint csökkentésével, illetve az anyai vércukor szint növelése által. A glükóz magzat részéről való értékesítése tehát inkább maximalizált, mint optimalizált, amely a magzati fejlődésben kiemelkedő szerepet kap, de emiatt az anya cukorbetegségétől sem óvja meg a magzatot a transzplacentális glükóz-szállító mechanizmus (INGERMANN, 1987).

Normális terhesség korai szakaszában a glükóz-tolerancia normális vagy alig emelkedett, a perifériás (izom) inzulin érzékenység, valamint a máj alap glükóztermelése élettani. Ezzel szemben az 1. trimeszterben az élettaninál nagyobb érzékenység mutatkozott az exogén bevitt inzulin vércukorszint-csökkentő hatására, mint a 2. és 3. trimeszterben.

A szájon át adagolt glükózra adott inzulinválaszok szintén erősebbek az 1. trimeszterben, mint terhesség előtt. A terhességet végigkövető tanulmányok szerint az inzulin hatása normál késői terhességben 50-70%-kal alacsonyabb, mint nem terhes nők esetében. A terhesség előrehaladtával az alap és posztprandriális inzulin koncentrációk progresszíven emelkednek. A 3. trimeszterre az alap és a 24 órás átlag inzulin koncentrációk megkétszereződhetnek. Habár a pontos mechanizmus még bizonytalan, feltehetően a hormonális környezet terhesség alatti változásai felelősek a csökkent inzulin érzékenyséért. A béta-sejtek érzékenységének változása párhuzamosan jelenik meg a főtplotacentalis egység növekedésével, és annak hormontermelésével. Az inzulin rezisztencia az elfogyasztott tápanyagok magzatba juttatását segíti elő. A korai terhességben az alap glükóz- és inzulin koncentrációk nem különböznek jelentősen a nem terhes értékektől. Az alap glükóz termelés nem különbözik a terhesség első 12-14 hetében. A 3. trimeszterre ugyanakkor az alap glükóz koncentráció 0,56-0,83 mmol/l-rel alacsonyabb lesz, az inzulin koncentráció pedig majdnem kétszerese emelkedik a nem terhes nőkéhez képest. A posztprandriális glükóz koncentrációk szignifikánsan magasabbak és a glükóz-csúcs elnyújtott. Az alap endogén máj glükóz termelés 16-30%-kal emelkedik, hogy kielégítse a placenta és a magzat növekvő szükségleteit. A glükóz termelés az anya testtömegével együtt növekszik, úgy, hogy a glükóz termelés testtömeg kilogrammra vetítve nem változik a terhesség során. Az endogén glükóz termelés érzékeny marad a fokozott inzulin koncentrációra a terhesség alatt, szemben a perifériás inzulin érzékenység progresszív csökkenésével. A teljes glükoneogenezis fokozott a késői terhességben, habár a glükoneogenezis részbeni hozzájárulása a piruváton keresztül (45-61%), és a teljes glükoneogenezis hozzájárulása a glükóz termeléshez (65-85%), nem különbözik terhes, ill. nem-terhes nők esetében egy 16 órás éheztetést követően.

A GDM definíciója: „változó súlyosságú szénhidrát intolerancia, mely az aktuális terhesség alatt alakul ki, ill. ismerik fel”. A GDM egy heterogén rendellenesség, amelynél a betegség súlyosságában szerepet játszik az életkor, a túlsúly, és a genetikai háttér. A GDM-es nők esélyeseek arra, hogy a későbbiekben 2-es típusú cukorbetegség alakul ki náluk. A GDM kórélettana ellentmondásos, vagy egy hajlamot tükröz a 2-es típusú cukorbetegsége, mely a terhességi anyagcsere során kifejeződésre jut, vagy pedig a terhesség alatt normálisan jelentkező anyagcsere-változások szélsőséges manifesztációja. A GDM nem az inzulin hiányos szekréciójának vagy a proinzulin ill. glukagon aránytalan szekréciójának következménye. A bizonyítékok azt a nézetet támasztják alá, miszerint a GDM egy kifejezett perifériás inzulin-rezisztenciához köthető. Az alap endogén glükóz termelés hasonlóan emelkedik a GDM-es és a kontroll páciensekben a terhesség során. A terhességi szénhidrát

anyagcserében felismert legfrissebb eredmények alapján a megelőző intézkedéseknek az inzulin érzékenység javítását kell célozniuk a GDM-re hajlamos nőknél, de további kutatások szükségesek (BUTTE, 2000).

Koski és Hill (1985) annak a feltevésnek a bizonyítására, amely szerint a maternális szénhidrát diéta nélkülözhetetlen az újszülött patkányok posztnatális túléléséhez, két kísérletet hajtott végre. Az 1. kísérletben az elsődleges energiaforrás az étkezési olajsav volt, a 2. kísérletben szójabab olaj.

Az 1. kísérletben a vemhes nőstények 4%-os diétás glükózt kaptak az első 8 napon, hogy a beágyazódást elősegítsék. A 9. naptól a nőstények 0, 2, 4, 8, 12 vagy 62% glükózt tartalmazó táplálékot kaptak. A kontroll csoport (62% glükóz) 5,6 g-os kölyköket ellett a 21. napon. A glükózzal nem etetett nőstények 3,1 g-os kölyköket ellettek két nappal később. Az almok túlélőképessége a maternális diétás szénhidrát mennyiségével növekedett. Minden kölyök 48 órán belül elhullott, amelynek anyja 0-4 % glükózt kapott a vemhesség 9. napjától. A 7. napig a túlélési ráta 10%-os volt 8% glükózzal, 23%-os 12% glükózzal, és 82%-os volt túlélési ráta 62% glükózzal kiegészített táplálék mellett. A 4%-os szénhidrát szintről korábban kimutatták, hogy ez a korai embriófejlődéshez a minimálisan szükséges a zsíralapú diéták esetén. A maternális szénhidrát szintje megváltoztatta a vemhesség hosszát. A 0 % glükóz diétán tartott anyák két nappal később ellettek. Az intermedier (2-12%) glükóz szintek esetén az ellés egy nappal tolódott el. A normál, 21 napos vemhesség csak a 62%-os kontroll diéta mellett volt tapasztalható. A születési súlyok 3,1 g-tól a normál 5,6 g-ig terjedtek a szénhidrátmentes étrendtől a 62%-os glükóz szintig. A maternális szénhidrátnek az első 8 napban történő, 4%-ra való lecsökkentése, majd a késői vemhességben alkalmazott magas szénhidrátbevitel nem eredményezett jelentősen megnövekedett neonatális elhullást, de szignifikánsan lecsökkent a születési súly és a fejlődési ráta, a magas szénhidrát-tartalmú diétával összehasonlítva. Ezzel szemben a kontroll diéta a 0-8. napon etetve, majd 4% glükózzal áttérve nem befolyásolta jelentősen a születési súlyt vagy a túlélést.

A 2. kísérletben a szójabab olaj alapú diéták esetében a 0. naptól 0, 4, 12 és 62% glükózt etettek. A 0% glükóz mellett kevesebb nőstény ellett később, és a születési tömeg nagyobb volt, mint az 1. kísérletben. A vemhesség hossza 1 nappal tolódott el a kontroll csoporthoz képest a 0 % glükóz diétán tartott patkányok esetében, és az alomsúly is jelentősen csökkent. Azonban a 4 % glükóz javította, a 12 % glükóz étrend megközelítette a kontroll csoport (62% glükóz) születési súlyát. Ennek ellenére 0 % glükóz-ellátottság mellett a 4. napig minden kölyök elpusztult. A 7. napig a túlélési ráta 4% glükóz mellett 48%, 12% mellett pedig 84% volt.

Egyik kísérletben sem tapasztaltak jelentős különbséget az utódok vércukor koncentrációjában a különböző diéták ellenére.

Az adatok azt bizonyítják, hogy a szénhidrát tartalmú takarmány szükséges a magzati növekedéshez, a normális elléshez, és az utódok születés utáni túléléséhez. Összehasonlítva a magas szénhidrát-tartalmú (62%) és a minimálisan elegendő szénhidrát-tartalmú (4%) étrendek hatásait a vemhesség első 8 napjában, melyet a vemhesség további részében és a laktáció alatt magas szénhidrát-bevitel követett, arra enged következtetni, hogy a korai szénhidrát-csökkentés károsító hatással van a magzati fejlődésre és a posztnatális növekedésre. A korai megvonásban részesült anyáktól származó kölyköknél az alacsony születési súly és a további jelentős csökkenés a súlynövekedésben azt mutatta, hogy a növekedés nem normalizálódott még a 2 héten át adott magas szénhidrát-tartalmú diéta adása ellenére sem. Korábbi megfigyelések alacsonyabb májglikogén raktározódást mutattak ki ilyen kölykökben, amelyek a vemhesség 21. napján császármetszéssel születtek.

Ezek a tapasztalatok azt mutatják, hogy egy korai és jelentős, a szénhidrát-csökkentésnek köszönhető anyagcsere-változás – még ha rövid ideig is tart – a magzatban megakadályozhatja az optimális glikogén-felhalmozódást, és ez a hiány lelassult neonatális növekedéshez vezet (KOSKI - HILL, 1986).

Romsos és munkatársai 1981-ben készült kísérlete szerint a vemhes szukáknak szüksége van a táplálékkal bevitt szénhidrátra annak érdekében, hogy egészséges kölyköket hozzanak a világra és felneveljék azokat. Ezt az általánosan elfogadott nézetet egy 1989-ben készült kísérlet alapjaiban ingatta meg. A kísérletben összesen tizenkét vemhes szuka vett részt, melyből hat egyedet keményítőt tartalmazó kontroll étrenddel, a másik hat egyedet teszt-étrenddel tápláltak a vemhesség teljes hosszában és a szoptatás alatt. A kísérletben hét Labrador és öt Beagle vett részt. A teszt étrendben szénhidrát nem volt, de minden esszenciális anyagot tartalmazott. Az eredmény meglepő volt, hiszen a két csoport reprodukciós teljesítménye és az almok életképessége között nem volt jelentős különbség, ahogy a szukák plazma vércukor szintjében sem. Feltételezhető, hogy a laktóz-szintézis független a táplálékkal bevitt szénhidráttól, mivel a kölykök testtömeg-gyarapodása kielégítő volt mindkét csoportnál. A Romsos és munkatársai (1981) által megfigyelt kutyákkal ellentétben ebben a kísérletben nem jelentkezett a szélsőséges hipoglikémia az ellés előtt a szénhidrátmentes étrenden tartott szukáknál sem. Erre a magyarázat az étrendek összetételében keresendő. A jelen kísérletben ugyanis a magas fehérje arány – a szénhidrátmentes étrend ellenére - biztosította a glükoneogenezishez szükséges aminosav mennyiséget. Bradley és munkatársai (1977) szerint ez kutyáknál az alanin, glicin, szerin. Romsos és

munkatársai (1981) kísérletében alacsony plazma-alanin szint volt megfigyelhető, ez volt az oka a glükoneogenezis alacsony kapacitásának. A végső következtetés tehát az, hogy a szukák esetében a szénhidrát ugyan esszenciális, de nem elengedhetetlen része az étrendnek (BLAZA, et al., 1989).

A szénhidrát étrendi hiánya átlagos fehérjebevitel mellett számos rendellenességet okoz a reprodukcióban, azonban magas fehérjebevitel mellett a hatások intenzitása csökken vagy akár meg is szűnik (KIENZLE - MEYER, 1989). Ez a farkas-ösökre visszagondolva érthető is, hiszen a farkas, mint ragadozó nem sok szénhidrát forráshoz jutott hozzá a zsákmányállatokon keresztül.

Az inzulin-rezisztens DM a hormonális változásokra vezethető vissza. Nőstény kutyákban a metösztusz alatt átmeneti DM fejlődhet ki. Ennek magyarázata, hogy a nem vemhes szukákban hasonló hormonváltozások következnek be a metösztusz 2 hónapja alatt, mint a vemhes állatban. Egy korábbi esetleírásban tizenegy metösztuszos szuka DM megállapítására az ösztusz utáni 3-5. héten (21-35 nap) került sor (EIGENMANN, et al., 1983).

Fall és munkatársai 2008-ban publikálták tizenhárom vemhességi diabéteszben szenvedő szuka kezelését. A tanulmányban a GDM a vemhesség 2. felében került megállapításra, átlagban a párosodás utáni 50. napon. Az átlag vércukor koncentráció a megállapítás idején 18,9 mmol/l volt. A tanulmányban középkorú szukák vettek részt, átlag életkoruk 5,9 év volt. A tizenhárom szukából tizenegy norvégiai spicc volt, habár ez nem mutat jelentőséget a fajta-diszpozícióra nézve, mert Svédországban készült a tanulmány, de nem lehet kizárni egy esetleges fajtadiszpozíció meglétét sem. A tizenhárom kutyából hét egyed a vemhesség végétől számított 21 napon belül meggyógyult a cukorbetegségből, annak ellenére, hogy a diagnózis idején magas vércukor-szinttel rendelkeztek. A GDM legfőbb oka az inzulin rezisztencia volt, ami reverzibilisnek bizonyult, így a vemhesség megszűnte után magától megoldódott. A többi öt kutyában a DM állandósult a krónikus hiperglikémia okozta glükóztotoxicózistól, ami károsította a hasnyálmirigy béta-sejtjeit. Az is lehetséges, hogy a maradandó DM esetében párhuzamosan a vemhességgel fennállt valamilyen autoimmun betegség vagy hasnyálmirigy-gyulladás. Az említett öt kutya idősebb volt a másik meggyógyult hét kutyánál. A kezelés inzulin adagolásából vagy a vemhesség megszakításából állt. Hét kutya esetében történt vemhesség megszakítás, egy egyed elpusztult az operáció után. A vemhesség megszakítás eredményeként csökkent a diabéteszes vemhességi hormonok koncentrációja és hatása is. Amennyiben a béta-sejt populáció fennmarad, a DM meg is szűnhet. A többi öt szuka inzulin kezelést kapott, melyek közül egy egyednek sikerült

kigyógyulni a cukorbetegségből. Az öt kutyából négy < 2 U/kg/nap inzulint, egy pedig > 2 U/kg/nap inzulin dózist kapott. Ez utóbbi gyógyult fel teljesen. Ebből következtethető, hogy egy esetleges magasabb dózis adásával jobb eredményeket lehetett volna elérni. Az újszülött kori mortalitás 27% volt, amely magasabb, mint a császármetszéssel világra jött kutyák esetében tapasztalt 20%-nál, így feltételezhetően a DM negatív hatással van az újszülöttek életképességére (FALL, et al., 2008).

Vizsgálatok bebizonyították, hogy az elléskor bekövetkező hipoglikémia vagy hipoxia hatására az újszülöttek mája képes reagálni, azaz glükózt termelni. Varma és munkatársai (1973) mutatták ki, hogy a kutyakölykök a születés utáni 4, 5. órától egészen az 55. napig kevésbé érzékenyek az inzulin hatására, mint a felnőtt kutyák. Az eredmények szerint a posztnatalis vércukor szint stabilizálásában a hasnyálmirigy eredetű glukagon és a szimpatikus hatású noradrenalin játszik szerepet, és kevésbé érvényesül az inzulin hatása. A születés utáni 4. órában az újszülött már képes a glükoneogenezisre, és ez a glükóz produkció 25%-át is kiteheti, míg a többi főleg a májban tárolt glikogénből szabadul fel (ADAM, et al., 1975).

Kutya magzatok allantois és amnion folyadékának biokémiai vizsgálatára irányuló kutatás szerint a két folyadék között jelentős különbség nincs a glükóz és pH tekintetében, de a totál protein tartalma között igen. A mérések a vemhesség 30-40 napja között laparotómia segítségével történtek. Hat szukából származó összesen 2x20 minta került vizsgálatra (BARRETO, et al., 2006).

Egészséges állatban a progeszteron a vemhesség alatt, mint inzulin antagonist hiperglikémiát okoz, ezt megcáfolva született meg egy esetbemutató egy 4 éves vemhes német dogról. Az állat súlyosan gyenge volt, és a különböző kezelések ellenére – mint a Ca-glükonát és oxitocin – az állat letargikus és elfekvő maradt. Az elsődleges laboreredmények alapján egyedül az alacsony vérglükóz koncentráció volt megállapítható. Néhány perccel a Dextrose i.v. adása után a kutya éber lett és felállt. Negyven perccel a kezelés után történt meg az ellés, és egészséges kiskutyák jöttek világra. Összesen csupán négy esetről tudunk, amikor szukák prepartalis hipoglikémiáját állapították meg, ezekből három esetben kistestű kutyákban jelentkezett a kórforma. Az egyetlen nagytestű vemhes szuka esetében a jelen leírás az első (GHAFARI - NAJAFIYAN, 2009).

A szukák esetében a vemhesség a megváltozott glükóz homeosztázis miatt növeli az esélyét a cukorbetegség kialakulásának. A megfigyelt Golden retrieverek egy csoportjánál az inzulin szükséglet növekedését tapasztalták a vemhesség 2. felében, de ez drasztikusan lecsökkent az ellés után. Mivel az inzulin szükséglet a nem vemhes metőszerű szukákban

is emelkedik, a megváltozott szénhidrát metabolizmusért a progeszteron a felelős (JOHNSTON, et al., 2001).

A kutyák esetében a vemhesség alatt diagnosztizált cukorbetegség nagyban hasonlít az embereknél ismert terhességi cukorbetegségre. Az inzulin érzékenység csökkenése az egészséges szukák esetében a vemhesség 30-35. napja körül jelenik meg, és egyre súlyosbodik a vemhesség vége felé. A metősztuszban is megfigyelhető az inzulin érzékenység csökkenése, habár kevésbé kifejezetten, mint a tényleges vemhesség alatt. Ha a cukorbetegség fennmarad a vemhesség vagy a metősztusz után is, akkor 1-es típusú cukorbetegség maradhat vissza. A periodikusan visszatérő metősztusz indukálta inzulin rezisztencia növeli az esélyét egy valódi állandósult cukorbetegség kialakulására (RAND, et al., 2004).

Az újszülöttek makroszómiaja került leírásra vemhességi cukorbeteg szukák esetében, ami valószínűleg a magzati hasnyálmirigy fokozott inzulin szekréciója miatt alakul ki, amely a magzatok részéről egy adaptációs válasz az anyakutya túlzottan megnövekedett glükóz szintjére (JOHNSTON, et al., 2001).

Eigenmann és munkatársai (1983) vizsgálatokat végeztek nőstény kutyák glükóz intoleranciájának és akromegáliájának kifejlődésére. Egyes egyedeknél a metősztusz alatt fejlődött ki a rendellenesség, más egyedeknél medroxyprogeszteron-acetát (MPA) adása után. Ennek hatására egyaránt emelkedett a plazma glükóz -, inzulin-, és növekedési hormon koncentrációja. A kezelt kutyák esetében az MPA kivonása, illetve ovariohisterektómia után a növekedési hormon koncentráció helyreállt a vércukor szinttel együtt. Az eredmények azt tükrözik, hogy a megnevezett rendellenességek a progeszteron indukálta növekedési hormonnak köszönhető (EIGENMANN, et al., 1983).

A vemhességi cukorbetegséget, mint a cukorbetegség egyik altípusát tartják számon. 2009-ben Svédországban készült tanulmány a vemhességi, ill. a metősztuszos cukorbetegség előfordulásának gyakoriságáról. A felmérésben összesen 618 nőstény kutya vett részt. Ebben a populációban a legnagyobb hányadot a svéd, ill. norvég Elkhound képezte, kisebb arányban pedig a Rottweiler és a Labrador. A felmérés alapján 60%-uk (376 egyed) bizonyult vemhességi vagy metősztuszos cukorbetegségben szenvedőnek. Az átlag életkor a diagnózis felállításakor 5,9 év volt (FALL, 2009). Ez a 60%-os arány ellentmond annak a feltevésnek miszerint a GDM kutyáknál ritkán fordul elő, de tény, hogy ritkán kerül diagnosztizálásra, mivel a tünetek csak súlyos esetben jelentkeznek (FALL, et al., 2008).

A felmérés alapján az alábbi következtetések vonhatók le. Az Elkhound fajta prediszponált a GDM-re, és nem vemhes szukáknál az első tünetek röviddel az ösztusz után

jelentkeznek. A vemhességi, ill. a metősztroszos cukorbetegségben szenvedő kutyák általában fel tudnak gyógyulni a vemhesség illetve a metősztrosz befejeződésével. A vemhességi DM-ben lévő állatot inzulinnal kontrollálni meglehetősen nehéz feladat, a vemhesség megszakítással általában a GDM is megoldódik magától (FALL, 2009).

Az említett eredményeket merészség lenne más országokra levetíteni, hiszen az országoként elterjedt kutyafajták meglehetősen változatosak, és mivel a vizsgált országban az Elkhound az egyik legelterjedtebb fajta, így az került be a vizsgálatba a legnagyobb hányaddal. Ebből az okból kifolyólag a predispozícióra vonatkozó állításokat óvatosan kell kezelni.

Az első publikált közlemény egy kistestű vemhességi cukorbetegségtől szenvedő szukáról 2011-ben jelent meg. A leírás szerint egy 6 éves Yorkshire terrier szuka 62 nappal a pároztatás után akut tüneteket kezdett mutatni, hányt és köhögött, továbbá poliúria és polidipszia jeleit mutatta a vizsgálat előtti 2 hét során a tulajdonos elmondása szerint. A vér biokémiai vizsgálata hiperglikémiát, ketonémiát, ketonuriát, és metabolikus acidózist igazolt. A kezelés folyadékpótlásból, preventív antibiotikum kezelésből, inzulin terápiából állt. A kutya a kezelés után hét egészséges kiskutyának adott életet. Két héttel az ellés után a szuka klinikailag egészségesnek bizonyult, normál fruktóz-amin koncentrációt mértek (ARMENISA, et al., 2011).

3. Anyag és módszer

3.1 A vizsgálatban résztvevő állatok

A vizsgálatokat a SzIE-ÁOTK, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinikán végeztük. A vizsgálat célja, hogy meghatározzuk milyen összefüggés áll fenn a vemhes szuka progeszteron, inzulin, és glükóz koncentrációja között, azaz, hogy a vemhesség mennyiben befolyásolja a glükóz anyagcserét az anyában és a fejlődő magzatokban. Az összefüggés megállapítása végett a vemhességi időt hetekre lebontottuk, így 9 hét progeszteron, inzulin, és glükóz koncentrációjának változásait vizsgáltuk.

A vizsgálatban vemhes szukák, különböző korú kutyamagzatok, és kontroll csoportként nem vemhes, metősztuszban lévő szukák vettek részt. Az adatok egy része korábbi mérésekből való.

A vemhes kutyák képezik az 1. csoportot. Az 1. csoportba tartozó szukák között vannak olyan egyedek is, amelyeknél a vemhességük alatt nem csak egyszer, hanem többször került sor vérvételre a glükóz, inzulin, és progeszteron koncentrációk meghatározása végett. A 2. csoportot a nem vemhes metősztuszos szukák alkotják, akikből egyszeri vérvétel során határoztuk meg a glükóz, inzulin, és progeszteron koncentrációkat. A 3. csoportba tartoznak a magzatok. A magzatok véreből, továbbá amnion-, és allantois folyadékából történt a glükóz, az inzulin, és a progeszteron koncentrációk mérése.

A mellékletben található 8. táblázatban láthatóak azok a szukák, akiknél a vemhességük alatt többször vettünk vért. Az állatok fajtái és a vérvételek időpontjai a vemhesség heti lebontásában (1.-9. hét) szerepelnek. A táblázatban szereplő számjegy azt mutatja, hogy az adott egyedből a vemhesség melyik heteiben vettünk vért. A táblázat utolsó sora azt jelzi, hogy az adott vemhességi héthez hány minta állt rendelkezésre ezekből az egyedekből.

A mellékletben szereplő 9. táblázat a vemhesség alatt egyszeri vérvételen átesett szukákat mutatja be fajtánként, és vemhességi idő szerint. A táblázatban szereplő számok azt jelzik, hogy az adott fajtából hány egyed volt vizsgálva az adott vemhességi héten. A táblázat utolsó sora jelzi az adott vemhességi héthez tartozó mintaszámokat.

A vizsgálatban összesen 66 vemhes szuka vett részt, amelyből 27 egyed esetén többször mértük a vizsgálandó paramétereket a 9 hét alatt, 39 egyed esetében pedig a vemhesség alatt egyszer történt mintavétel. A vemhes szukák átlagéletkora: 3,25 év.

A vizsgált mintaszámokat a vemhesség heteire lebontva az 1. táblázat szemlélteti.

1. táblázat: A vemhes szukákból származó minták száma heti lebontásban

Vemhesség	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Mintaszám	1	3	6	22	30	15	20	23	31

Az 1. csoport fajták szerinti alakulása, és egyedszáma a 2. táblázatban látható.

2. táblázat: A vemhes szukák fajtánkénti lebontása

Angol bulldog	2	Mopsz	2
Beagle	15	Német dog	4
Berni pásztorkutya	3	Német juhász	1
Bichon Frise	1	Retriever	6
Bullmasztiff	4	Shar pei	1
Chavalier K. C. spániel	1	Staffordshire terrier	3
Csivava	2	Szamojéd	1
Dobermann	3	Tacskó	1
Havanese	1	Orosz Terrier	2
Hovawart	2	Újfundlandi	2
Ír szetter	2	West Highland White terrier	1
Kanári-szigeteki kutya	1	Yorkshire terrier	2
Keverék	3		

A 2. csoport nem vemhes metősztuszos szukái fajtánkénti lebontásban a 3. táblázatban szerepelnek. A kontroll csoport tehát összesen 21 kutyából állt. Átlagéletkoruk: 4,6 év.

3. táblázat: A nem vemhes szukák fajtánkénti lebontása és egyedszáma

Angol bulldog	1	Kuvasz	1
Beagle	1	Magyar vizsla	2
Berni pásztorkutya	3	Német dog	1
Csau csau	1	Pumi	1
Csivava	1	Rottweiler	2
Husky	1	Törpe spicc	1
Keverék	3	Yorkshire terrier	2

A 3. csoportot alkotó magzatok anyáit és azok magzatait mutatja be a 4. táblázat.

4. táblázat: A vizsgált magzatok jellemzői

Szuka	Magzatok száma	Magzatok kora	Vizsgálati anyag
Keverék	3	20 napos	allantios, amnion
Keverék	6	30 napos	allantois, amnion
Beagle	6	30 napos	savó
Keverék	11	30 napos	allantois, amnion, savó
Keverék	8	50 napos	allantois, amnion, savó
Német juhász	7	50 napos	alantois, amnion, savó

A vizsgált magzatok anyái nem voltak cukorbetegek.

3.2 *Mintavétel*

Szukából zárt vérvételi eljárással lehetőség szerint éhgyomri mintavétel történt. A vérvétel helye a v. cephalica antebrachii. Előzőleg ezt a területet szőrtelenítettük és fertőtlenítettük. A tű vastagsága 18-20-22 G (a kutya nagyságától függően). A levett vért a vércukor azonnali meghatározása után hagytuk megalvadni (20 percig), majd lecentrifugáltuk. Az így szétvált felülúszót, a szérumot Eppendorf csövekbe tettük, és hűtőbe raktuk a vizsgálatig. A progeszteron és inzulin koncentrációkat az így nyert szérumból határoztuk meg. A vizsgálat a Szülészeti Tanszék Diagnosztikai Laboratóriumában történt. 24 órán belüli feldolgozás esetén a mintákat 2-8 °C-on, későbbi vizsgálat esetén a mintákat -20 °C-on tároltuk.

A magzatokból való mintagyűjtésre ovariohisterektómia elvégzésével került sor. Ketamin-xylazin-diazepam indukció és Isoflurán narkózis mellett a vemhes méhet a szakma szabályainak megfelelően eltávolítottuk. Az allantoisfolyadékot a méh falán keresztül elődomborodó allantois hólyagból fecskendő és tű segítségével nyertük. Az amnion folyadék levétele az allantois folyadék mintavétele után történt. Magzathoz a vérvétel a szívpunkcióval történt. A vérvételhez 5 ml-es fecskendőt és 22 G-s tűt használtunk.

A magzattól nyert vérminta előkészítése a szukáéval azonos módon történt. A magzattól nyert amnion-, és allantois folyadék minták előkészítésére nem volt szükség, a mintavételre használt fecskendőben kerültek a Szülészeti Tanszék Diagnosztikai Laboratóriumába, ahol a méréseket közvetlenül elvégeztük. Későbbi vizsgálat esetén a mintákat $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk. Az allantois és amnion folyadék glükóz koncentrációjának meghatározására a mintákat NaF tartalmú vérvételi csőben juttattuk a Belgyógyászati Tanszék és Klinika Laboratóriumába.

3.3 *A minta vizsgálata*

Glükóz (allantois, amnion) mérése a GLUKÓZ GOD/PAP liofilizált reagenskészlettel történt (Diagnosticum Zrt., Budapest, Magyarország). A mérés enzimatikus, kolorimetriás glükóz-oxidáz/peroxidáz (GOD/POD) teszttel történt. A mérés elve, hogy a glükóz-oxidáz (GOD) a glükózt glükonsavvá alakítja, miközben hidrogén-peroxid (H_2O_2) is keletkezik. A H_2O_2 -t a peroxidáz (POD) bontja és a Trinder-féle indikátor reakcióban 505 nm -en jól mérhető színes kondenzációs termék keletkezik. Az abszorbancianövekedés arányos a minta glükóz koncentrációjával. Egy méréshez szükséges minta mennyisége: $10\text{ }\mu\text{l}$ ($0,010\text{ ml}$), és a minta legyen hemolízismentes, mivel a vörösvérsejtekből kilépő glutation befolyásolhatja az eredményt. A módszer 40 mmol/l glükóz koncentrációig lineáris. Az érzékenységet az alkalmazott spektrofotométer befolyásolja, a megnevezett laboratóriumban $0,022\text{ mmol/l}$.

Glükóz (vér) meghatározására D-Cont Personal vércukormérőt használtunk (77 Elektronika Kft., Budapest, Magyarország).

Progeszteron meghatározás szérumból történt QuantiCheck Progesterone ELISA reagenskészlettel (SZIE- Állatorvos-tudományi Kar, Szülészeti Tanszék Budapest, Magyarország) Az anti-progeszteronnal fedett ELISA reagens csík lyukaiba a standard oldatokból $20\text{--}20\text{ }\mu\text{l}$ -t pipettáztunk. A standard oldatok koncentrációi: $0, 1, 2, 5, 10, 20, 40\text{ ng/ml}$ progeszteron. A mintából is $20\text{ }\mu\text{l}$ pipettáztunk a még üres lyukakba. Ezután a bemért anyagokhoz $200\text{ }\mu\text{l}$ progeszteron-torma-peroxidáz konjugátumot adtunk, majd homogenizáltuk az elegyet. Szobahőmérsékleten történt inkubálás után az elegyet kiöntöttük a lyukakból, és mosóoldattal kimostuk a lyukakat. Ezután $200\text{ }\mu\text{l}$ TMB (tetrametil-benzidin) reagenst mértünk a lyukakba. A reakció eredményeként $5\text{--}15$ perc elteltével kék szín fejlődött ki. A reakció leállítására $50\text{ }\mu\text{l}$ 3 N kénsavat mértünk be a lyukakba egyesével. Az ekkor keletkező sárga szín intenzitásának fotométerrel való meghatározása ad értéket a progeszteron koncentrációról. A színintenzitást 450 nm hullámhosszon mértük. A szín erőssége fordítottan

arányos a progeszteron koncentrációjával. A mérési tartomány: 1-40 ng/ml (3,17-126,8 nmol/l). Az érzékenység: 0,5 ng/ml.

Az inzulin koncentráció meghatározása Mercodia Canine Insulin ELISA kittel történt (Mercodia AB, Uppsala, Svédország; termelési szám: 10-1203-01). Az egerből származó monoklonális anti-inzulinnal fedett ELISA microtiterplate küvettáiba a standard sertés inzulin oldatokból 25 µl-t pipettáztunk. A standard sorozat 5 féle koncentrációban található meg. A vizsgálandó szérumból szintén 25 µl volt szükséges. A bemért standard oldatokhoz és a külön lyukakba bemért mintákhoz 100 µl inzulin-torma-peroxidáz konjugátumot pipettáztunk. Ezután homogenizáltuk az elegyeket összerázással, majd 2 órán keresztül szobahőmérsékleten inkubáltuk. Ezután a reagens csíkot mosóoldattal többször kimostuk, és ráértünk az egyes lyukakra 200 µl TMB szubsztrátot. 15 perc elteltével 50 µl 0,5 M kénsavat mértünk be az egyes lyukakba a reakció leállítására végett, és 5 másodpercig ráztuk az így keletkezett elegyet. Ezután 450 nm-en fotométerrel meghatároztuk a színintenzitást. Az érzékenység: 0,01 µg/l. Mérési tartomány: 0,01-1,5 µg/l.

4. Eredmények

4.1 Vemhes szukák

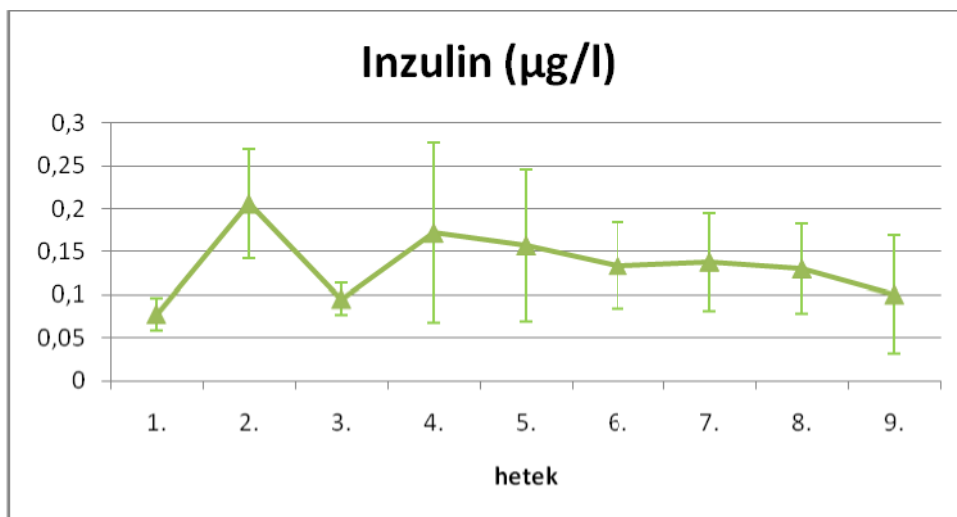
A 66 vemhes kutya megmért paramétereire alapján több vizsgálatot végeztünk. Minden szukából sor került glükóz és inzulin koncentráció meghatározásra, azonban a progeszteron koncentráció mérése nem minden állatból történt meg.

Az 1. héthez egy mérési eredmény állt rendelkezésre, progeszteron nélkül. A 2. héthez a progeszteronból 1 adat állt rendelkezésre. Ennek eredményeképpen születtek a következő értékek, amelyek az 5. táblázatban láthatóak a vemhességi hetek tükrében. Az 1. héten mért glükóz koncentráció 4,7 mmol/l, az inzulin 0,077 µg/l.

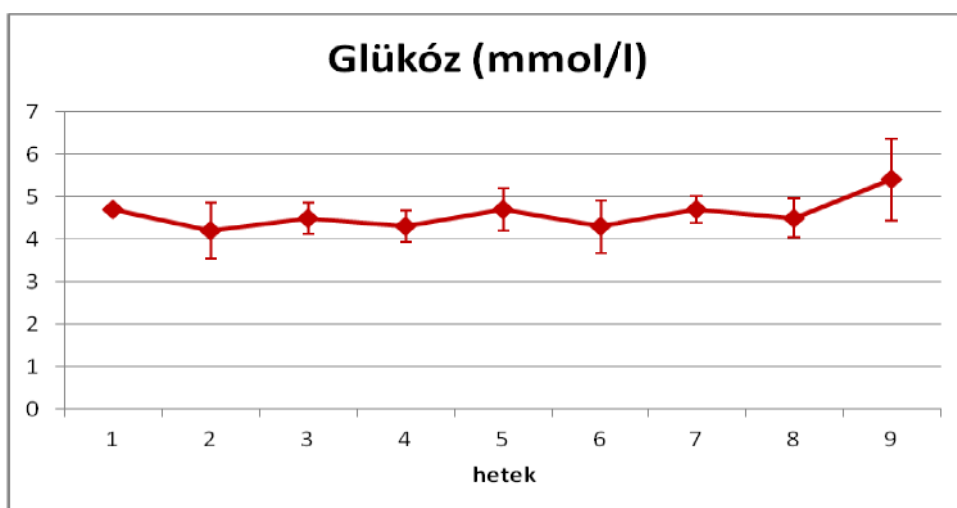
5. táblázat: A vemhes szukák értékei heti lebontásban

Vemhességi hetek	Glükóz átlag ± SD (mmol/l)	Inzulin átlag ± SD (µg/l)	Progeszteron átlag ± SD (ng/ml)
1.	4,7	0,077	–
2.	4,2 ± 0,66	0,206 ± 0,064	3,7
3.	4,5 ± 0,37	0,095 ± 0,019	16,8 ± 11,07
4.	4,3 ± 0,36	0,172 ± 0,104	19,2 ± 10,40
5.	4,7 ± 0,49	0,157 ± 0,088	12,6 ± 5,44
6.	4,3 ± 0,62	0,134 ± 0,050	7,3 ± 1,44
7.	4,7 ± 0,31	0,138 ± 0,057	9,5 ± 3,97
8.	4,5 ± 0,45	0,130 ± 0,052	5,6 ± 1,69
9.	5,4 ± 0,95	0,100 ± 0,068	2,9 ± 2,37

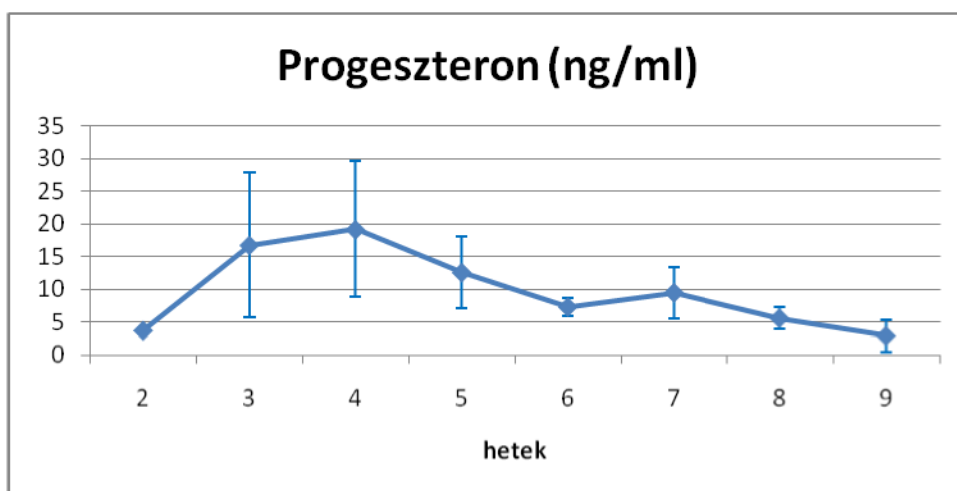
Az értékek alakulását az 1., 2., és 3. ábra grafikonjai mutatják be a vemhességi hetek szerint.



1. ábra: Az inzulin koncentrációk alakulása a vemhességi hetek függvényében



2. ábra: A glükóz koncentrációk alakulása a vemhességi hetek függvényében



3. ábra: A progeszteron koncentrációk alakulása a vemhességi hetek függvényében

A mért paraméterek közötti Pearson korreláció analízis hetenkénti mérésében a 3. héten találtunk szorosabb összefüggést mindhárom paraméter között, szám szerint a következőket. A glükóz és inzulin koncentrációk esetében $r=0,51$, a glükóz és progeszteron között $r=0,51$, míg az inzulin és progeszteron között szorosabb, $r=0,88$ korreláció mutatkozott. A glükóz és inzulin koncentrációk között a 7. héten jelentősebb ($r=0,62$) összefüggés volt kimutatható, mint a többi hét esetében. Ezekon kívül a 6. héten a glükóz és progeszteron koncentrációjában jelentkezett szorosabb összefüggés ($r=0,66$).

A Student-féle T-próba alapján szignifikáns különbség volt ($p < 0,05$) a glükóz koncentrációk között a 4. és 5., a 6. és 7., és a 8. és 9. hét értékei között. Az inzulin esetében csupán a 3. és 4. hét értékei különböztek jelentősen. A progeszteront vizsgálva a 7. és 8., illetve a 8. és 9. hét között volt szignifikáns különbség.

4.2 *Nem vemhes szukák*

A nem vemhes kontroll csoport átlagos glükóz koncentrációja $4,6 (\pm 0,84)$ mmol/l, az inzulin értéke $0,15 (\pm 0,090)$ $\mu\text{g/l}$, az átlagos progeszteron koncentráció $7,7 (\pm 6,28)$ ng/ml.

A korreláció analízis elvégzése után a progeszteron és az inzulin között jelentkezett összefüggés ($r=0,5$).

A Student-féle T-próba alapján a metősztuszban lévő szukák adatai és a vemhesség 4. hetében mért adatok között szignifikáns különbség ($p < 0,05$) a progeszteron koncentrációjában mutatkozott.

4.3 *Magzatok*

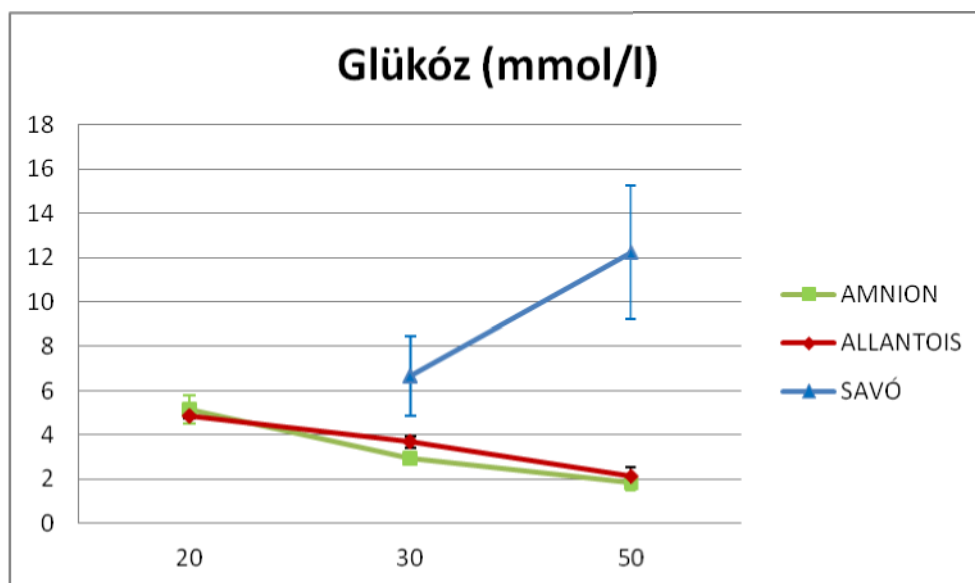
A magzatok értékeinek alakulását a 6. táblázat szemlélteti.

6. táblázat: A magzatok paramétereinek alakulása napok szerint

AMNION	Glükóz átlag \pm SD (mmol/l)	Inzulin átlag \pm SD ($\mu\text{g/l}$)	Progeszteron átlag \pm SD (ng/ml)
20 napos	$5,16 \pm 0,62$	–	–
30 napos	$2,93 \pm 0,13$	$0,015 \pm 0,010$	$0,58 \pm 0,07$
50 napos	$1,83 \pm 0,31$	$0,020 \pm 0,016$	$0,52 \pm 0,19$

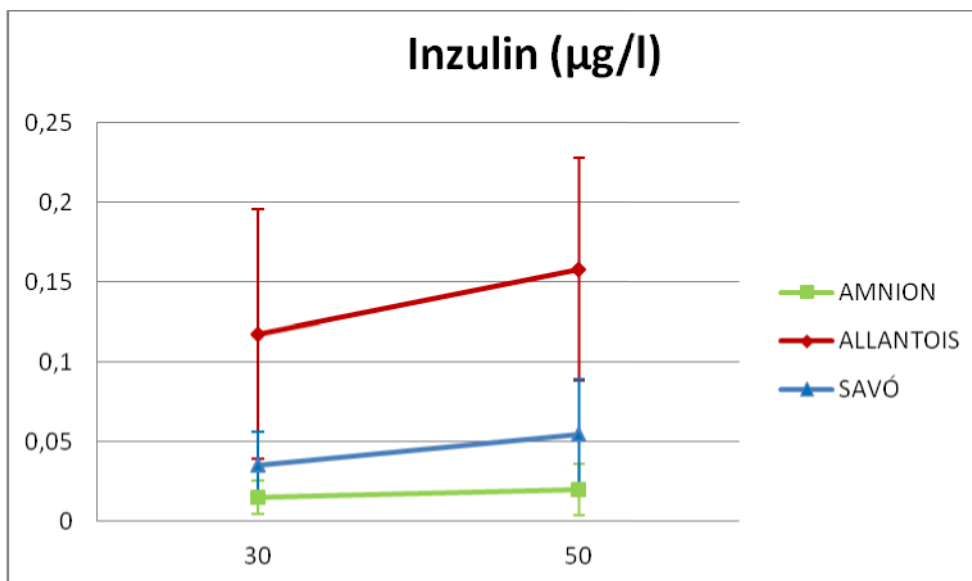
ALLANTOIS	Glükóz átlag ± SD (mmol/l)	Inzulin átlag ± SD (µg/l)	Progeszteron átlag ± SD (ng/ml)
20 napos	4,86 ± 0,11	–	–
30 napos	3,68 ± 0,25	0,117 ± 0,078	0,75 ± 0,22
50 napos	2,11 ± 0,44	0,158 ± 0,069	2,70 ± 1,23
SAVÓ			
20 napos	–	–	–
30 napos	6,66 ± 1,78	0,035 ± 0,021	1,13 ± 0,09
50 napos	12,23 ± 3,02	0,055 ± 0,034	1,48 ± 0,34

A 4. ábrán a glükóz koncentrációk alakulásai láthatóak. A magzati savó, az amnion-, és az allantois folyadék glükóz koncentrációi közül a savó koncentrációjára vonatkozóan a 30., és 50. napon mért adatok álltak rendelkezésre.



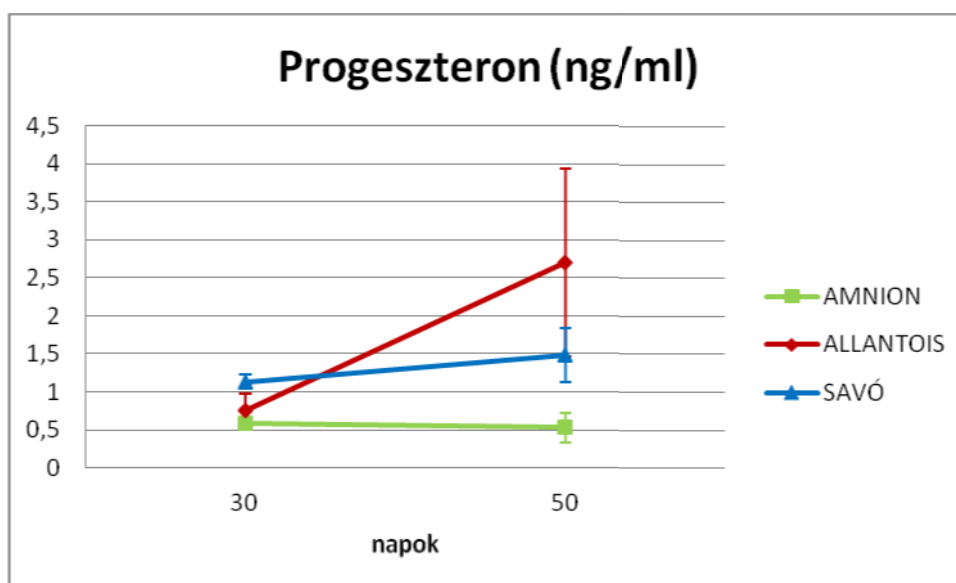
4. ábra: A glükóz koncentráció változásai a magzatban

Az 5. ábrán az inzulin koncentrációjának változásai láthatóak a különböző magzati folyadékokban.



5. ábra: Az inzulin koncentrációk változása a magzatban

A 6. ábrán a progeszteron koncentráció változásai láthatóak a magzati élet 30-50 napja között.



6. ábra: A progeszteron koncentrációk változása a magzatban

A magzatok hiányos adatai miatt a statisztikai alapszámítások nem teljes körűek, de a következő megállapítások levonhatóak a rendelkezésre álló adatokból.

A 30 napos magzatok allantois folyadékában az inzulin és progeszteron koncentrációk erősen korrelálnak ($r= 0,94$), a savóban a glükóz és inzulin között figyelhető meg összefüggés ($r= 0,56$). Az 50 napos magzatok esetében az amnion folyadékban a glükóz és inzulin között

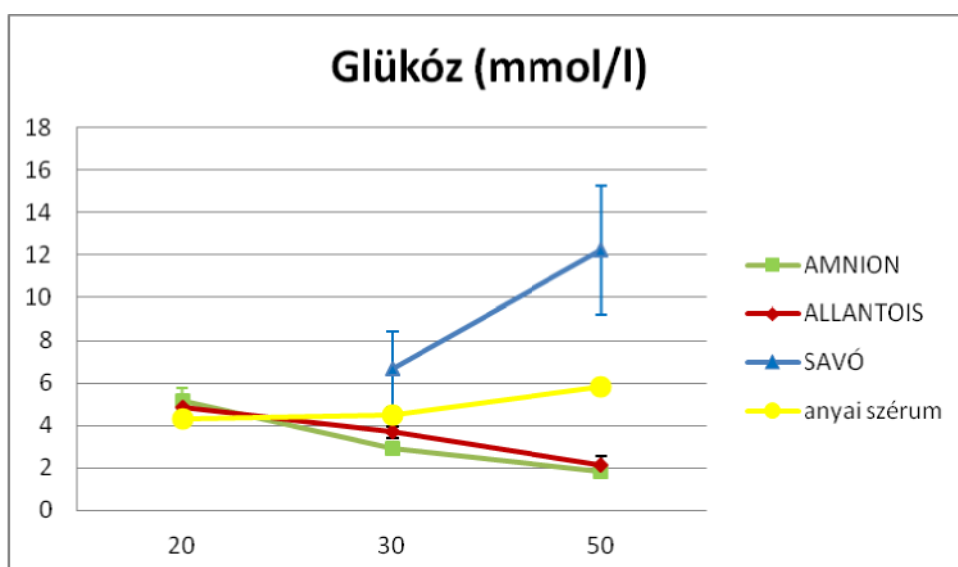
($r = 0,71$), illetve a glükóz és progeszteron között ($r = 0,5$) tapasztalható szorosabb összefüggés.

A 30 napos magzatok allantois-, és amnion folyadékának glükóz koncentrációi között jelentős korreláció áll fenn ($r = 0,75$), ahogy az inzulin koncentrációk között is ($r = 0,98$). A savó és allantois folyadék inzulin koncentrációi között azonban negatív a korreláció ($r = - 0,74$). A savó és amnion folyadék progeszteron koncentrációi között erős korreláció mutatkozik ($r = 0,99$).

Az 50 napos magzatok esetében az allantois-, és amnion folyadék glükóz koncentrációi között is jelentős korreláció áll fenn ($r = 0,7$), ugyanekkora érték volt számolható az inzulin szintek között is ($r = 0,7$). Az inzulin koncentrációk korrelációja az amnion folyadék és savó összehasonlítása esetén $r = 0,84$, míg a savó és allantois folyadék esetén $r = 0,61$. A progeszteron koncentrációk korrelációja az amnion folyadék és savó összehasonlítása során $r = 0,72$, míg az allantois folyadék és savó esetén $r = 0,88$.

A 20 és a 30 napos, illetve a 30 és az 50 napos magzatok glükóz értékei közt jelentős különbséget találtunk mind az allantois folyadék, mind az amnion folyadék, mind a savó esetében a Student-féle T-próba alapján ($p < 0,05$). Az inzulin értékeket vizsgálva – ugyanilyen metódusban, 30 és 50 nap között – szignifikáns különbség nem volt. A progeszteron értékek vizsgálatánál a 30 és 50 napos magzatok allantois folyadékában és savójában állt fenn szignifikáns különbség, míg az amnion folyadék esetében nem.

Az anyai szérum glükóz koncentráció alakulását a magzati élet 20. és 50. napja között szemlélteti a 7. ábra.



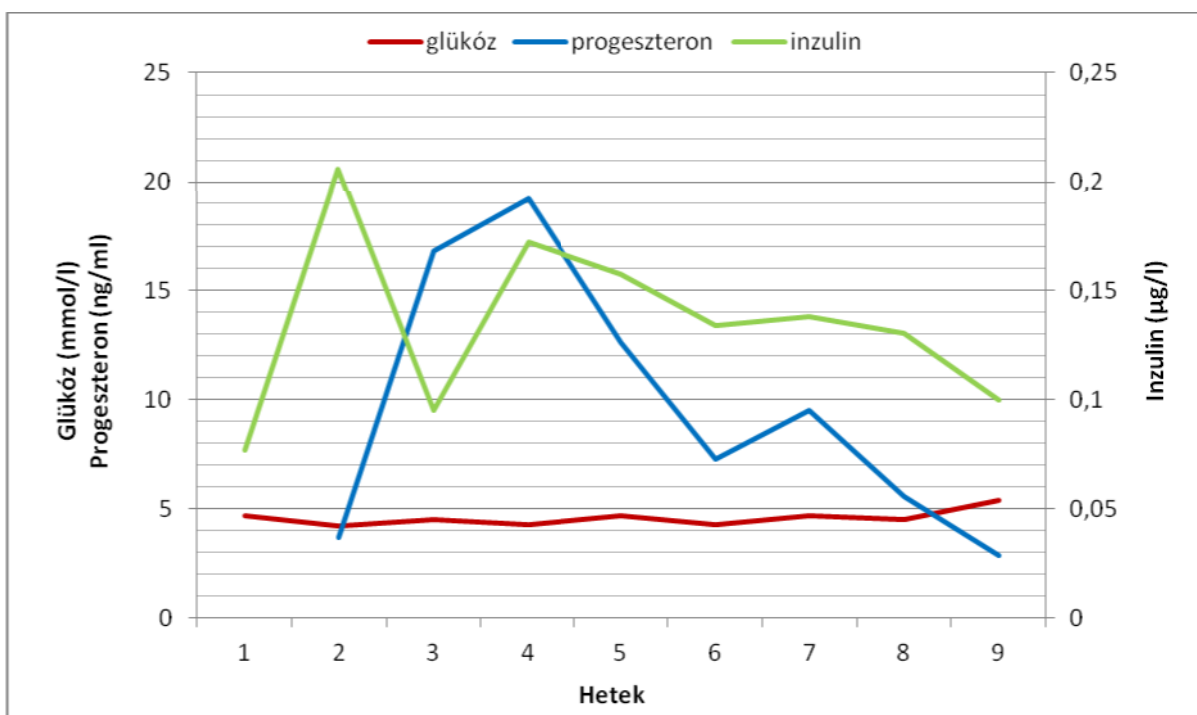
7. ábra: Az anyai szérum és a magzati folyadékok glükóz koncentráció változása

5. Megbeszélés

5.1 *Vemhes szukák*

A vemhesek progeszteron profiljának alakulása a vemhesség 9 hete alatt jól tükrözi a szakirodalomban közölt adatokat, miszerint a progeszteron koncentráció az LH csúctól számítva a 30. napig növekszik, onnantól fokozatosan csökken a metősztusz vagy a vemhesség végéig. Koncentrációja 10-70 ng/ml (FELDMAN – NELSON, 2004). A 2. héten tapasztalható alacsony P4 koncentráció annak tudható be, hogy arról a hétről csak egy minta állt rendelkezésünkre.

Az inzulin profilnál feltűnő a vemhesség 2. hetén való kiugrása, majd a 3. héten való hirtelen csökkenése. Ezek a változások a kevés mintának köszönhetőek, amely nem enged meg reprezentatív felmérést a vemhesség korai időszakában, vagy ténylegesen van egy inzulin plató a vemhesség elején, melynek okát nem tudjuk. A korreláció analízissel a 3. héten erős összefüggést találtunk az inzulin és progeszteron szintek között ($r= 0,88$), amely arra enged következtetni, hogy a vemhesség nagy hatással van a glükóz anyagcserére. A 8. ábra szemlélteti, hogy a 4. héttől az inzulin koncentráció növekedése követi a P4 koncentráció változásait. A progeszteron koncentráció növekedésével az inzulin szekréció is növekszik.



8. ábra: A vizsgált paraméterek vemhesség alatti változásai

Ez összecseng azzal a megállapítással, miszerint a progeszteron a tejmirigyek növekedési hormon *de novo* szintézisét serkenti, miáltal az inzulin érzékenység csökken a perifériás szövetekben (VERSTEGEN-ONCLIN - VERSTEGEN, 2008). A méréseink alapján az inzulin érzékenység csökkenése a vemhesség 28. napja körül kezdődik. Ez a megállapítás egyezik azzal a vizsgálattal, amelyben azt állapították meg, hogy az inzulin érzékenység csökkenése egészséges szukákban a vemhesség 30-35. napja körül jelentkezik, és egyre súlyosbodik a vemhesség vége felé (RAND, et al., 2004). Azonban a mi vizsgálataink alapján az inzulin érzékenység nem súlyosbodott, hanem a progeszteron koncentráció csökkenésével az inzulin koncentrációk is csökkentek.

A glükóz koncentrációk alakulása egyenletes, nem tapasztalható jelentősebb eltérés, legmagasabb értéket a vemhesség végén, a 9. héten vesz fel. Az inzulin és glükóz értékek közötti korreláció nem mutat szoros összefüggést, hiszen az inzulin változásaival ellentétben a glükóz szint egyenletes. Ez azt jelenti, hogy habár az inzulin érzékenység valóban csökkent a perifériás szövetekben – amelyet az inzulin koncentrációk emelkedése jelez – a vércukor koncentráció nem változott jelentősen, mert a máj a glikogenezis révén csökkenti a vércukor koncentrációt, hiszen a májban található GLUT -2 transzporter nem inzulin-függő, ellentétben, a zsírszövetben és izomszövetben található GLUT-4 transzporterrel. A vizsgált kutyák esetében egy egyedben sem alakult ki vemhességi cukorbetegség. Ennek oka abban keresendő, hogy a vizsgálatban résztvevő állatok egészségesek voltak, szisztémás betegségük nem volt. Ezek az eredmények azt a következtetést engedik levonni, hogy a vemhességi cukorbetegség kialakulásához egyéb tényezők is szükségesek, mint például májbetegség, vagy bármilyen hajlam a cukorbetegségre. Az életkor is jelentős tényező lehet a GDM kialakulásában, hiszen a vizsgálatban résztvevő vemhes szukák átlagéletkora 3,25 év, és ez jóval kevesebb, mint egy korábbi tanulmányban, amelyben 13 vemhességi diabéteszben szenvedő kutya kezeléséről számolnak be, akiknek átlagéletkoruk 5,9 év volt (FALL, et al., 2008). Ebből következően valószínűsíthető, hogy a GDM kialakulása főleg idősebb szukákban fordulhat elő.

5.2 Nem vemhes szukák

A T-próba alapján jelentős különbséget a progeszteron esetében találtunk a nem vemhes és 4 hetes vemhes szukák adatai alapján ($p = 0,03$). A metősztusz alatti progeszteron profil hasonló, mint vemhesség esetén, bár nem ér el olyan nagy koncentrációkat, de képes az

inzulin érzékenységet csökkenteni. A nem vemhes és 4 hetes vemhes szukák adatainak összehasonlítása látható a 7. táblázatban.

7. táblázat: A nem vemhes és vemhes szukák adatainak összehasonlítása

Paraméterek	Metősztusz	Vemhesség 4. hete
Glükóz átlag \pm SD (mmol/l)	4,6 \pm 0,84	4,3 \pm 0,36
Inzulin átlag \pm SD (μ g/l)	0,15 \pm 0,090	0,172 \pm 0,104
Progeszteron átlag \pm SD (ng/ml)	7,7 \pm 6,28	19,2 \pm 10,40

A 7. táblázatban az átlagértékek hasonlóságot mutatnak, így következtetésünk megegyezik azzal a feltevessel, miszerint a nem vemhes, metősztusz szukákban is megfigyelhető az inzulin érzékenység csökkenése, habár kevésbé kifejezetten, mint a tényleges vemhesség alatt (RAND, et al., 2004). Mivel az inzulin szükséglet a nem vemhes metősztusz szukákban is emelkedik, a megváltozott szénhidrát metabolizmusért a progeszteron a felelős (JOHNSTON, et al., 2001). Ha irányadónak vesszük azt az arányt, miszerint 65 kutyából 5 kutya esetében alakul ki a cukorbetegség metősztusz idején (FELDMAN - NELSON, 2004), akkor a mi esetünkben 1 vagy 2 szuka betegségét kellett volna megállapítanunk. Azonban a vizsgálataink nem támasztották alá a cukorbetegség meglétét egyik kutyában sem.

A vizsgálataink alapján levonható az a következtetés, hogy a kutyák vemhességi cukorbetegségének előfordulása vemhesség vagy metősztusz alatt egyáltalán nem gyakori a SZIE-ÁOTK Szülészeti Klinikájának vonzáskörzetében, Budapest ezen régiójában.

5.3 Magzatok

A magzatok vizsgálatánál – a kevés minta ellenére – jól látható a glükóz koncentrációk alakulása (4. ábra). A magzati élet 20 és 50 napja között az allantois-, és amnionfolyadékban csökken a glükóz koncentráció, míg a savóban nő. Ezt támasztja alá az is, hogy a 30 napos magzatok allantois-, és amnion folyadékának glükóz koncentrációi között jelentős korreláció áll fenn ($r = 0,75$), és az 50 napos magzatok esetében is jelentős a korreláció ($r = 0,7$) az allantois-, és amnion folyadék glükóz koncentrációi között. Továbbá statisztikailag kimutatható, hogy a 20 és a 30 napos, illetve a 30 és az 50 napos magzatok glükóz értékei közt jelentős különbség áll fenn mind az allantois folyadék, mind az amnion folyadék, mind a

savó esetében a Student-féle T-próba alapján ($p < 0,05$). Ez az eredmény harmonizál azzal a vizsgálattal, amelyben 30 és 40 napos magzatok allantois és amnion folyadékát összehasonlítva a glükóz koncentrációk között nem találtak jelentős különbséget (BARRETO, et al., 2006).

Az inzulin koncentrációk a 30. és 50. nap között mindhárom folyadékban nőnek, de nem azonos mértékben (5. ábra). Legnagyobb mértékben, és legnagyobb koncentrációban az allantois folyadékban nő az inzulin koncentráció, majd a savóban, végül az amnion folyadékban. Ez összefüggésben áll, azzal, miszerint a hasnyálmirigy Langerhans szigetei a születés után is képződnek, de működésük már a magzati korban, a magzat fejlődésének második harmadában kimutatható (FEHÉR, 2000). Az amnion folyadékban az alacsony inzulin koncentrációhoz minimális növekedés társul. A 30 napos magzatok allantois-, és amnion folyadékának inzulin koncentrációi között nagyon erős a korreláció ($r = 0,98$). A savó és allantois folyadék inzulin koncentrációi között azonban negatív a korreláció ($r = - 0,74$). A savó és amnion folyadék korrelációjának kiszámítására adathiány miatt nem volt lehetőség. Az 50 napos magzatok esetében az allantois-, és amnion folyadék inzulin koncentrációi között jelentős korreláció áll fenn ($r = 0,7$). Az inzulin koncentrációk az amnion folyadék és savó összehasonlítása esetén $r = 0,84$, míg a savó és allantois folyadék esetén $r = 0,61$. Az 50 napos magzatok esetében az amnion folyadékban a glükóz és inzulin között a korreláció $r = 0,71$. Az inzulin értékeket vizsgálva a Student-féle T-próbával 30 és 50 nap között szignifikáns különbség nem tapasztalható egyik vizsgálati anyagban sem.

A progeszteron koncentráció a 30 és 50 nap között az allantois folyadékban és a savóban nő, míg az amnion folyadékban minimálisan csökken (6. ábra). A 30 napos magzatoknál a savó és amnion folyadék progeszteron koncentrációi között erős korreláció mutatkozik ($r = 0,98$). Az 50 napos magzatok esetében a progeszteron koncentrációk az amnion folyadék és savó összehasonlítása során $r = 0,72$, míg az allantois folyadék és savó esetén $r = 0,88$. A progeszteron értékek vizsgálatánál a 30 és 50 napos magzatok allantois folyadékában és savójában áll fenn szignifikáns különbség, míg az amnion folyadék esetében nem. A 30 napos magzatok allantois folyadékában az inzulin és progeszteron koncentrációk erősen korrelálnak ($r = 0,94$).

A glükóz koncentráció emelkedése a savóban összefüggésben állhat a magzati vérkeringés kifejlődésével, amely a magzati élet 3. hetére fejeződik be. Ennek kialakulásával az amnion folyadékból származó glükóz, mint a magzat számára jelentős szénhidrát forrás csökkenni kezd. A magzati máj még nem képes a GNG-re, (ADAM, et al., 1975), és csak minimális fokú glukogenezist végez (BOSSI - GREENBERG, 1972). A savó magas glükóz

koncentrációja tehát az anyából származik. A savóban a növekvő glükóz koncentrációt növekvő inzulin koncentráció kíséri, habár nem olyan meredekséggel. Megfigyelhető, hogy az allantois folyadékban az inzulin koncentráció nő, a glükóz koncentráció csökken, a progeszteron koncentráció pedig ötszörösére emelkedik a vizsgált időszakban. Az amnion folyadékban a legkevésbé intenzívek a változások, a glükóz koncentráció csökkenése mellett, az inzulin és progeszteron koncentrációk alig változnak a 30. és 50. nap között.

6. Összefoglalás

Bevezetés: A szuka kutyák vemhesség alatti hormonváltozásai nagy hatással vannak a glükóz anyagcserére. A vemhesség fő hormonja a P4, amely serkenti a tejmirigy GH termelését, amely anti-inzulin hatású, és inzulin érzékenység csökkenését váltja ki a perifériás szövetekben. Ennek eredményeképpen vemhességi cukorbetegség alakulhat ki. A metősztuszban lévő szukákban – a hasonló P4 profil miatt – szintén kialakulhat inzulin rezisztencia, de kisebb mértékben. A fejlődésben lévő magzatok glükóz anyagcseréje szoros összefüggésben áll az anyáéval. Vizsgálataink kiterjedtek a vemhes szukák és a metősztuszban lévő szukák glükóz, inzulin, és P4 koncentrációinak megmérésére és összehasonlítására, és ugyanezen paraméterek meghatározására a magzati savóból, illetve az allantois-, és amnion folyadékból. **Anyag és módszer:** 66 vemhes szuka, és kontrollként 21 metősztuszban lévő szuka glükóz, inzulin, és P4 koncentrációit határoztuk meg. A vérvétel időpontja alapján a vemhességi időszakot heti lebontásban vizsgáltuk. A magzatokból 20, 30, és 50 naposak kerültek vizsgálatra. A vércukrot D-Cont Personal vércukormérővel, a P4 és inzulin koncentrációt ELISA kittel mértük, az allantois-, és amnion folyadék glükóz meghatározása GOD/POD módszerrel történt. **Eredmények:** A vemhes szukák esetében kimutatható a P4 profillal együtt mozgó inzulin szint változás, különösen a 3. héttől, ahol a két érték korrelációja magas ($r = 0,88$). A glükóz és inzulin koncentrációk között a legmagasabb korreláció a 7. héten ($r = 0,62$), a glükóz és P4 között a 6. héten ($r = 0,66$) jelentkezett. Nem vemhes szukák adatait összehasonlítva a vemhesség 4. heti adataival, szignifikáns különbség ($p < 0,05$) a P4 koncentrációjában mutatkozott. A magzatok esetében a vizsgált periódusban szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) találtunk a glükóz és P4 koncentrációkban. A savóban mindkét paraméter növekedett, az allantois folyadékban a glükóz csökkent, a P4 jelentősen nőtt, míg az amnion folyadékban a glükóz és a P4 is csökkent. Az inzulin mindhárom folyadékban nőtt, legnagyobb koncentrációt az allantoisban ért el. **Megbeszélés:** A vemhes szukákban a progeszteron koncentráció növekedésével az inzulin szekréció is növekedett, az inzulin érzékenység csökkenése a vemhesség 28. napja körül kezdődött. Vemhességi cukorbetegség nem alakult ki, és a vemhesség végével az inzulin szint normalizálódott. A nem vemhes egyedekben sokkal kevésbé csökkent az inzulin érzékenység a metősztusz alatt. A magzatok savójában a 30. naptól jelentősen emelkedett a glükóz koncentráció, míg az allantois-, és amnion folyadékban csökkent. Az inzulin és P4 koncentráció az allantois folyadékban emelkedett legnagyobb mértékben, míg az amnion folyadékban a P4 csökkent, és az inzulin csak kismértékben emelkedett.

7. Melléklet

8. táblázat: Többszöri vérvételen átesett vemhes szukák

		Vemhesség								
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Fajták										
1	Beagle				1	1	1	1	1	1
2	Beagle				1	1	1	1	1	1
3	Beagle				1	1	1	1	1	1
4	Beagle				1	1	1	1	1	1
5	Beagle				1	1	1	1	1	1
6	Beagle				1	1	1	1	1	1
7	Beagle				1	1	1	1	1	1
8	Beagle				1	1	1		1	1
9	Beagle				1	1			1	1
10	Beagle					1				1
11	Beagle					1				1
12	Beagle			1	1	1	1		1	
13	Beagle	1	1	1		1	1	1	1	
14	Berni pásztorkutya							1	1	
15	Bullmasztiff				1				1	1
16	Dobermann		1			1	1	1	1	1
17	Hovawart					1		1		1
18	Hovawart					1			1	
19	Ír szetter				1	1		1		
20	Német dog					1		1		
21	Német dog				1	1	1	1	1	1
22	Retriever				1			1		
23	Retriever				1			1		
24	Staffordshire terrier				1			1	1	1
25	Staffordshire terrier					1		1		1
26	Szamojéd					1	1	1		
27	Újfundlandi						1		1	1
Mérések:		1	2	2	16	21	14	19	18	18

9. táblázat: Egyszeri vérvételen átesett vemhes szukák

Vemhesség Fajták	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	Egyedszám
Angol bulldog					2					2
Beagle				1				1		2
Berni pásztorkutya		1							1	2
Bichon Frise									1	1
Bullmasztiff				2	1					3
Chavalier K. C. spániel									1	1
Csivava									2	2
Dobermann								2		2
Havanese									1	1
Ír szetter			1							1
Kanári-szigeteki kutya									1	1
Keverék					3					3
Mopsz									2	2
Német dog						1	1			2
Német juhász			1							1
Retriever				1	2			1		4
Shar pei			1							1
Staffordshire terrier				1						1
Tacskó									1	1
Orosz terrier				1				1		2
Újfundlandi									1	1
West Highland White terrier			1							1
Yorkshire terrier									2	2
Mérések:	0	1	4	6	9	1	1	5	13	39 egyed

8. Summary

The maternal and fetal glucose homeostasis changes during pregnancy in dogs

Introduction: The hormonal changes during pregnancy in female dogs have a major impact on glucose metabolism. The main hormone of pregnancy is P4, which stimulates the GH production of mammary glands. GH has an anti-insulin effect, and reduces insulin sensitivity in peripheral tissues. As a result, gestational diabetes may occur. The bitches in metoestrus – due to a similar P4 profile – also develop insulin resistance, but to a lesser extent. In the developing fetal glucose metabolism is closely linked that of to the mother. The scope of the study covers pregnant females and females in diestrus, we measured and compared their glucose, insulin, and P4 concentrations. Furthermore, we determined the same parameters for the fetal whey, and the allantois, and the amniotic fluid. **Materials and methods:** Glucose, insulin, and P4 concentrations were determined for 66 pregnant females, and, as a control for 21 females in metoestrus. We investigated the gestation period in one-week fractions, based on the date of the blood samples. Fetuses of 20, 30 and 50 days were examined. Blood sugar level was determined by the D-Cont Personal blood glucose meter, while the P4 and insulin concentrations were measured by ELISA kit, the allantois and the amniotic fluid glucose determination was carried out by the GOD/POD method. **Results:** In the case of pregnant females, P4 profile changes and insulin levels were detected to moving along especially from the third week, where correlation is high ($r = 0.88$). Glucose and insulin concentrations are of the highest correlation during the 7th week ($r = 0.62$), glucose and P4 during the sixth week ($r = 0.66$). Data of non-pregnant females compared with data from the fourth week of pregnancy showed a significant difference ($p < 0,05$) in P4 concentrations. The fetuses, in the period of the experiment, showed significant difference ($p < 0.05$) in P4 and glucose concentrations. Both parameters increased in the whey, allantoic glucose decreased, P4 increased significantly, while P4 and glucose in the amniotic fluid also decreased. Insulin increased for all three liquids, the largest concentration having been reached in the allantois fluid. **Discussion:** The increased concentration of progesterone in pregnant bitches evoked an increase in insulin secretion; the decrease in insulin sensitivity started around the 28th day of pregnancy. Gestational diabetes did not develop, and insulin levels returned to normal by the end of gestation. Non-pregnant animals showed much less reduction of insulin sensitivity during the diestrus. Glucose concentration in the serum of fetuses after day 30 significantly increased, while in the allantoic, and amniotic fluid it decreased. Insulin and P4 concentration in the allantois fluid increased the most, while in the amnion fluid, P4 decreased and insulin only slightly increased.

9. Irodalomjegyzék

- ADAM, P. A. J. et al. 1975: Glucose production in the newborn dog. I. Effects of glucagon *in vivo*. *Pediatric Research*. 9 vol. 11 no. p. 816-820.
- AKAZAWA, S. et al. 1994: Glucose metabolism in separated embryos and investing membranes during organogenesis in the rat. *Metabolism*. 43 vol. 7 no. p. 830-835.
- AKAZAWA, S. 2005: Diabetic embryopathy: Studies using a rat embryo culture system and an animal model. *Congenital Anomalies*. 45 vol. 3 no. p. 73-79.
- ARMENISA, A. et al. 2011: Gestational diabetes mellitus with diabetic ketoacidosis in a Yorkshire terrier bitch. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 47 vol. 4 no. p. 285-289.
- BARBOUR, A. L. et al. 2006: Reduced IRS-1 and increased serine IRS-1 phosphorylation in skeletal muscle of women with GDM. *Diabetes*. 55. vol. 1 no. p. 39. (Abstract)
- BARBOUR, A. L. et al. 2007: Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*. 30 vol. 2 no. p. 112-119.
- BARRETO, C. S. et al. 2006: Biochemical evaluation of amniotic and allantoic fluids from 30 to 40 day pregnant bitch. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*. 101 vol. 559-560 no. p. 215-217.
- BLAZA, S. E. et al 1989: Is carbohydrate essential for pregnancy and lactation in dogs?. In: Nutrition of the dog and cat. Waltham Symposium 7.: Cambridge, UK., 1989. p. 229-242.
- BOSSI, E., GREENBERG, R. E. 1972: Sources of Blood Glucose in the Rat Fetus. *Pediatric Research*. 6 vol. 10 no. p. 765-772.
- BUTTE, N. F. 2000: Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 7 vol. 5 no. p. 1256-61.
- CSEH K. et al. 2004: Plasma adiponectin and pregnancy-induced insulin resistance. *Diabetes Care*. 27. vol. 1 no. p. 274-275.
- EIGENMANN, J. E. et al. 1983: Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinol* 104 vol. 2 no. p. 167-176.
- FALL, T. et al. 2008: Gestational diabetes mellitus in 13 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 22 vol. 6 no. p. 1296-1300.
- FALL, T. 2009: Characterisation of diabetes mellitus in dogs. Doctoral Thesis, Uppsala, Svédország. p. 40-41., 51.

- FEHÉR Gy. 1987: Az embrió testének lefűződése a sziktömlőről és a magzatburkok kialakulása. In: FEHÉR Gy.: Fejlődéstan II. Általános rész. 4. átdolg. kiad. Budapest: Állatorvostudományi Egyetem. p. 207., 241-242., 250.
- FEHÉR Gy. 2000: Az emésztőkészülék. In: FEHÉR Gy.: A háziállatok funkcionális anatómiája II. 2. átdolg. kiad. Budapest: Mezőgazda Kiadó. p. 353.
- FELDMAN, E. C., NELSON, R. W. 2004: Canine female reproduction. In: FELDMAN, E. C., NELSON, R. W.: Canine and Feline Endocrinology. 3rd ed. WB: Saunders. p. 751-919.
- FRENYÓ V. L., RUDAS P. 1995: Endokrinológia. In: FRENYÓ V. L., RUDAS P.: Az állatorvosi élettan alapjai. Budapest: Springer Hungarica Kiadó. p. 398-403.
- FROST, R. A., LANG, C. H. 2005: Skeletal muscle cytokines: regulation by pathogen-associated molecules and catabolic hormones. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 8 vol. 3 no. p. 255-263.
- GHAFFARI, M. S., NAJAFIYAN, H. R. 2009: Diagnosis and management of preparturient hypoglycemia in a Great Dane bitch. *Comparative Clinical Pathology*. 18 vol. 4 no. p. 467-468.
- GUDE, N. M. et al. 2005: Expression of GLUT12 in the fetal membranes of the human placenta. *Placenta*. 26 vol. 1 no. p. 67-72.
- HAN, J. et al. 2007: Rat maternal diabetes impairs pancreatic β -cell function in the offspring. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 293 vol. 1 no. p. 228-236.
- HUANG, C. et al. 2009: Prolactin receptor is required for normal glucose homeostasis and modulation of beta -cell mass during pregnancy. *Endocrinology*. 150 vol. 4 no. p. 1618-1626.
- INGERMANN, R. L. 1987: Control of placental glucose transfer. *Placenta*. 8 vol. 6 no. p. 557-571.
- JOHNSON, C. A. 2008: Glucose homeostasis during canine pregnancy: Insulin resistance, ketosis, and hypoglycemia. *Theriogenology*. 70 vol. 9 no. p. 1418-23.
- JOHNSTON, S. D. et al. 2001: Canine Pregnancy. In: JOHNSTON, S. D. et al.: Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia: Saunders, 2001. p. 86-87.
- KALHAN, S. C. et al. 1979: Glucose production in pregnant women at term gestation. Sources of glucose for human fetus. *Journal of Clinical Investigation*. 63 vol. 3 no. p. 388-394.
- KALHAN, S., PARIMI, P. 2000: Gluconeogenesis in the Fetus and Neonate. *Seminars in Perinatology*. 24 vol. 2 no. p. 94-106.
- KERVRAN, A., GIRARD, J. R. 1974: Glucose-induced increase of plasma insulin in the rat foetus *in utero*. *Journal of Endocrinology*. 62 vol. 3 no. p. 545-551.

- KIENZLE, E., MEYER, H. 1989: The effects of carbohydrate-free diets containing different levels of protein on reproduction in the bitch. In: Nutrition of the dog and cat. Waltham Symposium 7.: Cambridge, UK., 1989. p. 243-257.
- KIRWAN, J. P. et al. 2002: TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes*. 51 vol. 7 no. p. 2207-2213.
- KOSKI, K. G., HILL, F. W. 1986: Effect of low carbohydrate diets during pregnancy on parturition and postnatal survival of the newborn rat pup. *The Journal of Nutrition*. 116 vol. 10 no. p. 1938-48.
- MASTERNAK, M. M. et al. 2005: Effects of caloric restriction and growth hormone resistance on the expression level of peroxisome proliferator-activated receptors superfamily in liver of normal and long-lived growth hormone receptor/binding protein knockout mice. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 60 vol. 11 no. p. 1394-1398.
- PARK, H. W. 1997: Changes of amniotic fluid glucose concentration in an isolated rat embryos. *Korean journal of Anatomy*. 30 vol. 2 no. p. 141-145.
- PARK, H. W., SHEPARD H. T. 1994: Volume and glucose concentration of rat amniotic fluid: Effects on embryo nutrition and axis rotation. *Teratology*. 49 vol. 6 no. p. 465-469.
- POSTIC, C. et al. 1994: Development and regulation of glucose transporter and hexokinase expression in rat. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 266 vol. 4 no. p. 548-559.
- RAMOS, M. P. et al. 2003: Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 285 vol. 2 no. p. 318-328.
- RAND, J. S. et al. 2004: Canine and feline diabetes mellitus: Nature or nurture? *The Journal of Nutrition*. 134 vol. 8 no. p. 2072-80.
- SHAO, J. et al. 2000: Vanadate enhances but does not normalize glucose transport and insulin receptor phosphorylation in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes mellitus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 183 vol. 5 no. p. 1263-1270.
- SHEPARD, H. T. et al. 1997: Glucose absorption and utilization by rat embryos. *International Journal of Developmental Biology*. 41 vol. 2 no. p. 307-314.
- SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. 1996: Endokrin rendszer és a hormonok. In: SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A.: SH Atlasz Élettan. 2. kiad. Budapest: Springer Hungarica Kiadó. p. 259-261.

- TUCH, B. E. et al. 1985: Maturation of the response of human fetal pancreatic explants to glucose. *Diabetologia*. 28 vol. 1 no. p. 28-31.
- VERSTEGEN-ONCLIN, K., VERSTEGEN, J. 2008: Endocrinology of pregnancy in the dog: a review. *Theriogenology*. 70 vol. 3 no. p. 291-299.
- WEI, J. P. et al. 2003: Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice. *Cell Transplantation*. 12 vol. 5 no. p. 545-552.
- WINKLER G. et al. 2002: Tumor necrosis factor system in insulin resistance in gestational diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 56 vol. 2 no. p. 93-99.
- WOLF, H. J., DESOYE, G. 1993: Immunohistochemical localization of glucose transporters and insulin receptors in human fetal membranes at term. *Histochemistry and Cell Biology*. 100 vol. 5 no. p. 379-385.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Thuróczy Juliannának, hogy sok hasznos tanáccsal és türelemmel támogatta szakdolgozatom elkészülését. Köszönöm a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika dolgozóinak segítségét, kiemelve Dr. Kollár Esztert, Dr. Müller Lindát, és Wölfling Annát.

Továbbá köszönöm Domokos Valériának az önzetlen segítségnyújtást és támogatást, és családomnak a végtelen türelmet.