

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

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

PhD értekezés

Készítette:

Dr. Balogh Éva

2009

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

Témavezető:

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

Témabizottsági tagok:

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

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

.....
Dr. Balogh Éva

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	5
1. Összefoglalás	6
2. Summary	8
3. Bevezetés	10
4. Irodalmi áttekintés	12
4.1. Diabetes mellitus típusai, háttere, diagnosztikája	12
4.2. Diabetesez szövödmények patogenezeze	15
4.3. Haematologiai szövödmények	16
4.4. Késői szövödmények	19
4.4.1. Metabolikus jellegű szövödmények	20
4.4.1.1. Cataracta, uveitis	20
4.4.2. Cardiovascularis szövödmények	21
4.4.2.1. Microangiopathiák	22
4.4.2.2. Macroangiopathiák	24
4.5. A diabetesez beteg kezelése	28
4.6. Endothelium	31
4.7. Endothelin	33
4.8. Natriureticus anyagok	41
5. Célkitűzés	43
5.1. Oralis antidiabeticumok kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában	43
5.2. Endothelin- és natriureticus peptidszint szívhipertrófiában kísérletes diabetes mellitusban kutyában	44
5.3. Endothelin által kiváltott kamrai arrhythmiaák vizsgálata kísérletes diabetes mellitusban kutyában	44
6. Oralis antidiabeticumok kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában	46
6.1. Anyag és módszer	46
6.2. Eredmények	48
6.3. Megbeszélés	54

7. Endothelin- és natriureticus peptidszint szívhipertrófiában kísérletes diabetes mellitusban kutyában	58
7.1. Anyag és módszer	58
7.2. Eredmények	60
7.3. Megbeszélés	65
8. Endothelin által kiváltott kamrai arrhythmia vizsgálata kísérletes diabetes mellitusban kutyában	69
8.1. Anyag és módszer	69
8.2. Eredmények	70
8.3. Megbeszélés	73
9. Új tudományos eredmények	76
10. Irodalom	77
11. Publikációk	93
12. Köszönetnyilvánítás	94

Rövidítések jegyzéke

AKNY	artériás középnyomás	JK	jobb kamra
ALT	alanin-aminotranszferáz	KK	kezelési különbség
ALP	alkalikus foszfatáz	LAD	bal elülső leszálló coronaria ág
ANP	atrialis natriureticus peptid	LDL	low density lipoprotein
AT	angiotenzin	MD	átlagos vércukorszint csökkenés
ATP	adenozin-trifoszfát	mRNS	messenger RNS (ribonukleinsav)
BK	bal kamra	NIDDM	nem inzulindependens diabetes mellitus
BNP	B-típusú natriureticus peptid	NO	nitrogén-monoxid
CNP	C-típusú natriureticus peptid	NPR	natriureticus peptid receptor
cGMP	ciklikus-guanozin- monofoszfát	NT-ANP	atrialis natriureticus peptid N-terminalis fragmentuma
DM	diabetes mellitus	PG	prostaglandin
DNS	dezoxi-ribonukleinsav	PPVC	postprandialis vércukorszint
ECE	endothelin-konvertáz enzim	SZS	szív súlya
EDTA	etilén-diamin-teraacetát	TC	összcholeszterin
EKG	elektrokardiogram	TFA	trifluor-ecetsav
ET	endothelin	TG	triglicerid
ÉVC	éhhomi vércukorszint	TS	testsúly
FVS	fehérvérsejt	VCK	vércukorszint különbség
HbA1c	glikált hemoglobin	VLDL	very low density lipoprotein
HDL	high density lipoprotein	VVS	vörösvérsejt
HG	hyperglycaemia		
IDDM	inzulindependens diabetes mellitus		

1. Összefoglalás

A diabetes mellitus az egyik leggyakrabban diagnosztizált hormonális betegség kutyákban. A kór emberek körében is jelentős számban fordul elő és az érintettek száma egyre nő, nem véletlen, hogy a humán medicina népbetegségként emlegeti. Amerikai népességre vonatkozó adatok szerint 65 éves kor felett a diabetes előfordulása eléri a 10%-ot. Becslések szerint a betegek száma 2035-re meghaladja a 300 milliót a Földön. Emberekben a 2-es típusú diabetes előfordulási gyakorisága (80–90%) jóval meghaladja az 1-es típusét, bár idővel a 2-es típusnak indult betegségben is szükség lehet inzulin adagolására.

A cukorbetegség következtében kialakult szövődmények emberben jelentősen hozzájárulnak a halálához. Ezen szövődmények között első helyen kell említeni a diabeteshez társuló cardiovascularis elváltozásokat.

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

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

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

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

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

A humán kísérletes medicina a kutyát modellállatként használja különféle kísérletekben, többek között a cukorbetegség hátterének, patomechanizmusának, szövődményeinek feltárására.

Az endothelin-1 (ET-1) számos hatással rendelkező endogén peptid. Erős vasoconstrictiót okozó tulajdonságán felül pozitív inotrop hatással is bír, emellett

arrhythmiák kiváltására is képes és hozzájárulhat bizonyos patológiás állapotok kialakulásához.

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

Az ET-1 szintje diabeteses kutyák perifériás vérében és a coronariákban magasabb volt, mint az egészségesekében. Sönt hatására egészséges kutyákban a perifériás vérben és a coronariákban levő vérben az ET-1 szintje nem változott, míg diabeteses állatokban csökkent. A pericardialis folyadék ET-1 szintje magasabb volt a plazmáénál, mennyisége azonban változatlan maradt a sönt kialakításától, vagy a diabetestől függetlenül. Az NT-ANP mennyisége alacsony volt alapállapotban a pericardialis folyadékban, a perifériás és a coronariás vérben egyaránt, míg a sönt kialakítása következtében megemelkedett, ugyanakkor az ANP koncentrációjának eltérései kevésbé követték a haemodinamikai állapot változását.

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

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

2. Summary

Diabetes mellitus is one of the most common hormonal diseases in dogs. It is also frequent in humans and the number of patients increases progressively. According to American data the incidence of diabetes in the human population over 65 years reaches 10%. According to estimations the number of patients would be beyond 300 million by 2035 in the world. Type-2 diabetes is considerably more frequent (80–90% of all diagnosed cases).

Diabetic complications are strongly implicated in human mortality reasons. Cardiovascular alterations are of great importance among these complications.

The diabetes of dogs is equally important either in veterinary or in experimental human medicine. The management of diabetic dogs is an important issue for the veterinarian. The therapy is based nearly exclusively on insulin.

The present study compiles three experiments. In the first experiment we examined the effectiveness of oral antidiabetic drugs in alloxan diabetic dogs.

There are three widely used drug families in human type-2 diabetes: alpha-glucosidase inhibitors, biguanids and sulfonylureas. Each of them is represented in our study.

The alpha-glucosidase inhibitor acarbose, the biguanid-type metformin and the sulfonylurea gliclazide were investigated. According to our results, metformin was the only drug which exerted significant blood glucose lowering effect in postprandial blood glucose level comparing to that of before feeding.

The second and the third part of the study are of human and of veterinary interest at the same time.

Human experimental medicine applies dogs as models in the research of the background, the pathomechanism and the complications of diabetes.

Endothelin-1 is an endogenous peptide with different effects. Beside being a potent vasoconstrictor, it exerts positive inotropic and arrhythmogenic effect on the heart and it can contribute to the development of certain pathological states.

The second aim of the study was to determine the changes in endothelin-1 and in natriuretic peptid levels in healthy dogs and in dogs with experimentally induced diabetes in response to acute hemodynamic burden that was produced with

arteriovenous shunts in experimental diabetes in dogs. We have measured the levels of endothelin-1 and natriuretic peptid in the peripheral blood, in the coronary arteries and in the pericardial fluid. Endothelin-1 levels were higher in the peripheral blood and in the coronary arteries in diabetic patients than in healthy dogs.

Shunted circulation did not change systemic and coronary endothelin-1 levels in healthy dogs while reduced them in diabetic dogs. Endothelin-1 levels were higher in the pericardial fluid than in the plasma and they remained unchanged independently of the shunt or diabetes. The alterations in NT-ANP levels followed the hemodynamic state sensitively, while ANP levels did not show consequent changes.

In our third experiment the arrhythmogenic effect of endothelin-1 was examined in diabetic and in metabolically healthy dogs.

Our results showed that a diabetic heart is more prone to the arrhythmogenic effect of endothelin-1.

3. Bevezetés

A diabetes mellitus mind az emberek, mind a kutyák körében elterjedt betegség. A vezető tünetként jelentkező emelkedett vércukorszint háttérében azonban többféle kórfolyamat állhat. A beteg kora ugyanúgy, mint testalkata utalhat a sejt és molekuláris szinten zajló folyamatokra.

A cukorbetegség korszerű felosztása csak azután vált lehetségessé, hogy a vérben előbb biológiai, majd izotópos módszerrel megbízható pontossággal endogén inzulint tudtak kimutatni. Ezeket az eljárásokat az 50-es évek végén vezették be a humán klinikumba.

A diabetes mellitus típus alapján történő elkülönítésének alapja ma is az, hogy a beteg vérében van-e saját inzulin, illetve képes-e számottevően megnövelni az étkezés az endogén inzulin mennyiségét. Az 1-es típusú diabetes döntően autoimmun háttérű betegség, amely során a hasnyálmirigy Langerhans szigeteiben lévő béta-sejtek pusztulnak és jellemzően inzulinhiány alakul ki, míg a 2-es típusban a vérben van elegendő, vagy akár túlzott mennyiségű inzulin, a sejtek azonban nem érzékelik azt.

A magas vércukorszint következtében a test szöveteiben, sejtjeiben lerakódó és kötésbe lépő glükóz kóros folyamatokat indíthat el, melyek az életkilátásokat is befolyásolják. A kiserek bazális membránjának megvastagodása, rugalmasságának csökkenése a microangiopathiák alapja, melyek szervi manifesztációja a humán diabeteses betegekben nagy gyakorisággal diagnosztizált retinopathia, nephropathia és neuropathia.

Cukorbeteg kutyák körében ezen elváltozások igazolása viszonylag ritka. Fakadhat ez egyrészt abból, hogy az állatok rövidebb életideje alatt az említett krónikus eltérések kifejlődésére nincsen elegendő idő, másrészt abból, hogy a diagnosztikai protokollok nem terjednek ki ezek kivizsgálására.

A diabetes cardiovascularis rendszerre gyakorolt hatásai nemcsak a kiserek, hanem a nagyobb véredények falának változásaiban is megnyilvánulnak. A macroangiopathiák kialakulása azonban multifaktoriális folyamat, amelyben az anyagcsere-folyamatok eltolódása, a hipertónia és a vér magas lipidszintje egyaránt szerepet játszik emberekben. A folyamatot kutyák esetében elsősorban a vér lipidszintjének emelkedésével hozzák kapcsolatba.

A diabeteses szervezetben tapasztalható szerkezeti és funkcionális eltérések számos folyamatban megnyilvánulnak, amelyekben egyre több endogén anyag közreműködésére derül fény. Ezek egyike a szerteágazó hatásokkal rendelkező endothelin, amely potens érszűkítő tulajdonsága mellett befolyásolja a szív működését, ezen felül mitogén, proliferációs és differenciációs folyamatokban is szerepel. Koncentrációja a különböző folyadékterekben, mennyiségének különböző hatásokra történő változása, szívre gyakorolt hatása a diabetes következményeinek feltérképezéséhez fontos adatokat szolgáltat.

A cukorbetegség szövődményei nagymértékben csökkenthetők a beteg anyagcseréjének megfelelő szinten való beállításával. Kutyák cukorbetegségének kezelésében szinte kizárólagos az inzulin használata, míg humán vonatkozásban a kezelési lehetőségek tárháza jóval szélesebb. A diabeteses ember kezelése többek között függ betegségének típusától, az alkalmazott szerre adott reakciójától, társbetegségektől.

Kutyákban több szempontból kívánatos lenne a kizárólag injekciós formában adagolható inzulin mellett más alternatívák felfedezése, erre kínálkozó lehetőség a humán gyakorlatban alkalmazott szerek állatorvosi protokollba való beilleszthetőségének vizsgálata.

4. Irodalmi áttekintés

4.1. Diabetes mellitus típusai, háttere, diagnosztikája

A diabetes mellitus (DM) a fehérje-, a zsír- és a szénhidrátanyagcsere zavarában megnyilvánuló hormonális rendellenesség, ami krónikus hyperglykaemia kialakulását eredményezi. A betegség hátterében az inzulin csökkent termelése, vagy hasznosulása áll (Catchpole et al. 2005).

A DM primer, vagy szekunder formában jelentkezhet. A *primer* diabetes mellituson belül két típust különítünk el. Az 1-es típusnál a pancreas béta-sejtjeinek pusztulása során az inzulintermelés hanyatlásnak indul, majd szinte teljesen megszűnik. Az ilyen állatok inzulinterápiára szorulnak, ezért a betegségnek ezt a formáját korábban inzulindependens diabetes mellitusnak is hívták (IDDM).

Az 1-es típusba sorolható a pancreas béta-sejtjeinek pusztulása miatt fiatal korban örökletesen kialakuló primer juvenilis diabetes. Ez a kórforma egyéves kor alatt jelentkezik. Viszonylag ritkán diagnosztizálják, a diabeteses betegek mindössze egy százaléka tartozik ebbe a csoportba. Gyakrabban érintett fajták: dobermann pincser, német juhász, golden retriever, labrador retriever, óangol juhászkutya (Awad et al. 1989).

Kutyában az esetek többségében 1-es típusú diabetes jelentkezik (Nelson és Couto 2009). Diagnosztizálásra többnyire az állatok 4–14 éves kora között, leggyakrabban 7–9 éves korban kerül. Elsődlegesen érintett fajták: puli, Cairn terrier, pincser, törpe schnauzer, beagle, spicc, labrador, foxterrier, cocker spániel (Christopher 1995). Szukákban kétszer (Christopher 1995) egyes adatok szerint háromszor (Lancaster et al. 1994) gyakrabban fordul elő a betegség, mint kanokban.

A 2-es típusú diabetest inzulinrezisztencia és/vagy a béta-sejtek hiányos működése jellemzi. Inzulinrezisztencia esetén a szövetek inzulinnal szembeni érzékenysége lecsökken, ami mögött állhat például a sejtek inzulinreceptorainak megfogyatkozása. Az inzulinelválasztás lehet túlzott mértékű, alacsony, vagy normális, mégsem elegendő ahhoz, hogy a perifériás szövetek inzulinrezisztenciáját legyőzze. Ezért ezt a típust korábban nem inzulindependens diabetes mellitusnak (NIDDM) is nevezték. Elhízott kutyákban a 2-es típusú DM is kialakulhat. Az ilyen állatok energia- és ezen

keresztül glükózigénye is emelkedett. A hyperglykaemia a pancreas inzulintermelését fokozza és hyperinsulinaemiát okoz. Ennek eredményeként csökkenni kezd a béta-sejtek inzulinreceptorainak száma, amit a hasnyálmirigy egy ideig fokozott inzulintermeléssel kompenzál, majd idővel a béta-sejtek kimerülnek, aminek következtében az inzulinfüggőség ebben az esetben is kialakul. A betegség az esetek többségében (72%) hétéves kor után alakul ki (Grooters et al. 1994) és kasztrált hímekben 1,5-szer gyakoribb. Fajta prediszpozíciót nem írtak le.

A *szekunder* diabetest 3-as típusnak is nevezik. Ebben a típusban a szénhidrát-intolerancia másodlagosan alakul ki valamilyen inzulinrezisztenciát, vagy béta-sejt pusztulást okozó betegség következményeként (Basher és Roberts 1995). A növekedési hormon, a kortizol, az adrenalin és a glukagon diabetogén hatású, mivel inzulinantagonistaként működik. Ezek a hormonok elősegítik a fehérjék és a glikogén cukorra alakítását.

Inzulinrezisztencia több tényező hatására is kialakulhat. Kuttyában a progeszteron szintje megemelkedik az ösztroz alatt, majd az ösztroz végén elért csúcspont után a következő hónapok folyamán fokozatosan csökken. A progeszteron az inzulinantagonista növekedési hormon fokozott elválasztását indukálja, ami diabetest okozhat 3–4 héttel az ivarzás kezdete után (Jaspan 1989). A progeszteron koncentrációja a vemhesség alatt is emelkedett. A hyperglykaemia a vemhes diabeteses szukában a magzati növekedési hormon fokozott termelését váltja ki, ami nagy magzatokat eredményez.

Iatrogen inzulinrezisztencia a kontraceptív medroxiprogesteron-acetát kezelés hatására is kialakulhat. A betegségre utaló tünetek a kezelés után 6–12 héttel jelentkeznek (Brownlee et al. 1984).

Vemhesség alatt a placenta által termelt inzulinbontó enzim, az inzulináz-rendszer a pancreas fokozott működését és ezáltal a béta-sejtek erőteljesebb igénybevételét idézi elő, mely szintén hozzájárulhat az inzulinrezisztencia kialakulásához (Hoar 1982).

Az ösztrogén szintén csökkenti az inzulinreceptorok érzékenységét (Diehl 1995).

A növekedési hormon primer túlprodukciója, mint ritkán előforduló hormonzavar, szintén diabetest eredményezhet. Az acromegáliában megnyilvánuló betegség tüneteket okoz a vázrendszeren és a lágy szövetekben is: a megnyúlt bőr redőket formál a test extremitásain, a fogak eltávolodnak egymástól (Brownlee és Cerami 1981).

Endogén (Cushing szindróma), vagy exogén (oralis, vagy parenteralis adagolás) hatásra kialakult magas glükokortikoid szint is okozhat diabetes mellitust. A kortikoszteroidok glükoneogenezis útján emelik a vér glükózsintjét és csökkentik a glükózfelhasználást a perifériás szövetekben. Ha a hormonszintet rövid időn belül sikerül normális értékre csökkenteni, az inzulinkezelés esetleg elkerülhető (Bloodworth és Molitor 1965). Az esetek egy részében azonban a betegség felismerésekor a béta-sejt pusztulás előrehaladottsága ezt nem teszi lehetővé.

Fertőzés, trauma, vagy szívbetegségek stresszhormonok (adrenalin és glukagon) termelését váltják ki, melyek szintén inzulinantagonisták (Gepts és Toussaint 1967).

A fentiek mellett egyes gyógyszerek is hozzájárulhatnak a cukorbetegség kialakulásához. Egyes diuretikumok, például a furosemid huzamosabb alkalmazás során káliumhiányt idéznek elő. Hypokalaemiás állapotban a glükóz sejtekbe jutása is zavart szenvedhet, mivel az inzulin és a kálium egyaránt szükségesek a cukor sejtekbe jutásához. Hypokalaemiás állapotban a hasnyálmirigy inzulinkibocsátása is csökkent (Feldman és Nelson 1987).

A diabetes mellitus diagnózisát klinikai tünetek és laboratóriumi leletek alapján állíthatjuk fel. Jellemző a polyuria, a polydipsia és a polyphagia ellenére fokozódó testsúlycsökkenés. A vérben a normális 3,5–5,5 mmol/l-t (Gaál 1999) meghaladó vércukor értékek mérhetők. A vese filtrációs küszöbét meghaladó vércukor koncentrációnál a cukor a vizeletben is megjelenik, aminek következményeként ozmotikus diuresis és konzekvensen polyuria lép fel. A polyuria miatt dehidráció alakul ki, amit az állat fokozott vízfogyasztással kompenzál. A testsúlycsökkenés részben a vizelettel glükóz formájában elvesztett kalória eredménye, részben inzulin hiányában a sejt éhezése miatt alakul ki, mivel a glükóz nem képes a sejtbe bejutni. A sejteken belüli glükózhány hatására diabetogén hormonok szabadulnak fel (növekedési hormon, kortizol, glukagon, adrenalin), amelyek hatására újabb glükózmennyiség jut a vérbe a zsír- és izomszövet bontása által. A megnövekedett energiaigény polyphagiában nyilvánul meg.

A vér biokémiai paraméterei komplikációmentes esetben többnyire normálisak. Az esetenként jelentkező eltérések gyakran a betegséggel összefüggő kóros folyamatokat jeleznek, mint például májlipidosis, pancreatitis. A szérum alanin-aminotranszferáz (ALT) és alkalikus foszfatáz (ALP) értékei ilyenkor általában emelkedettek. A vér karbamid és kreatinin tartalma is megnövekedhet akár primer veseprobléma,

akár a dehidráció miatt kialakuló praerenalis uraemia miatt. Hypertriglyceridaemia miatt kialakult lipaemia is gyakori kezeletlen cukorbetegekben. Emelkedett lipáz és amiláz értékek egyidejű pancreatitisre utalhatnak. A hyperglykaemia fennállásának időbeliségét jelzi a vér fruktózamin és glikált haemoglobin (HbA1c) tartalma. A fruktózamin koncentráció a megelőző 5–7 nap átlagos vércukorszintjéről tájékoztat, míg a glikált haemoglobin a vörösvérsejtek élettartamának megfelelően a mintavétel előtti 8–12 hét vércukorszintjét tükrözi.

A vizeletben glükóz, ketonanyag és gyakran baktériumok mutathatók ki, esetenként pyuriával és haematuriával társulva.

4.2. Diabetesez szövődmények patogeneze

A diabetes szövődményeinek patogeneze ma sincs felderítve minden részletében, azonban több olyan reakció ismert, amelyek szerepet játszanak kialakulásában.

A tartósan emelkedett glükózsztint következményeként a fehérjemolekulák nem-enzimatis reakciók során glikálódnak. A glükóz a sejtek fehérjemolekuláihoz kémiai kötéssel kapcsolódik, amelynek következtében megváltozik a fehérjék szerkezete és/vagy a funkciója (Brownlee és Cerami 1981).

Ez a nemenzimatis glikálódás számos fiziológias folyamatot befolyásol, például az enzimaktivitást, a regulátor molekulákhoz való kötődést, a fehérjék keresztkötéseinek kialakulását, a proteolízist, a makromolekulák felismerését, az endocitózist, az immunogenitást (Brownlee et al. 1984), amelyek közreműködnek a késői szövődmények kialakulásában. Elsősorban azokat a sejteket érinti, melyek glükózfelvele nem inzulinfüggő, így az intracellularis glükózkoncentráció a plazmabeli szintet tükrözi. A vörösvérsejtek, a vérlemezkék, és az endothel sejtek glükózfelvele független az inzulintól, akárcsak az idegsejteké, továbbá a szemet és a vesét alkotó sejteké.

A glikálódás során keletkezett stabil termékek a sejten belül felhalmozódnak. Hetek, hónapok alatt a glikált fehérjék további átalakuláson mennek át és a glükóz irreverzibilis kötődése által létrehozott glikozilációs végtermékek jönnek létre. Ezek a hosszú életidejű fehérjékhez kötött termékek nem tűnnek el a vércukorszint normalizálódását követően sem, hanem felhalmozódva a diabetes késői szövődményeinek létrejöttében játszanak szerepet.

A diabetes szövődményeinek kialakulásához a sejtek oxidatív károsodása is hozzájárul, amely az oxigéngyökök (hidrogén-peroxid, szuperoxid-anion és hidroxilgyökök) sejtfehérjékkel, zsírokkal és nukleinsavakkal történő reakcióinak következménye. Az oxidáció membránlipid-peroxidációt, fehérjedenaturációt és a sejt szintetikus funkcióinak károsodását eredményezheti. Diabetesben az oxidatív károsodás egyrészt az oxigén-szabadgyökök nagyobb arányú jelenlétének, másrészt az antioxidáns rendszer csökkent működésének az eredménye. A fehérjéhez kötött glükóz spontán autooxidációja a szabadgyök-képződés fontos mechanizmusa, a folyamatban ezenkívül a megváltozott vasanyagcsere, a mikronutriensek egyensúlyzavara (pl. cink, aszkorbinsav) és az aktivált neutrophil granulocyták és monocyták működése is szerepet játszik.

A glioxaláz és a polyol reakcióút szintén hozzájárul a diabetes szövődményeinek kialakulásához (Christopher 1995).

A glioxaláz reakcióút a glikolízis mellett jelenlevő másodlagos glükózbontó reakcióút. Hyperglykaemia esetén metilglioxál és S-D-laktoglutation keletkezik, amelyek megváltoztatják a sejt strukturális fehérjéit és DNS-ét, ezenkívül befolyásolják a sejt növekedését. A D-tejsav a glioxaláz reakcióút végterméke és egyben markere.

A polyol reakcióút során a főlegben lévő glükóz a sejtekben szorbittá alakul. Ennek a reakcióútnak a kulcsenzime az aldózreduktáz, amelynek glükózhoz való affinitása csekély, ezért ennek a reakcióútnak normális anyagcsere mellett nincs patológiás következménye. A felhalmozódott szorbit lassú ütemben fruktózzá oxidálódik, amely képes elhagyni a sejtet.

4.3. Haematologiai szövődmények

A többi diabeteses komplikációval szemben a haematologiai változások már a betegség korai szakaszában megfigyelhetők, megfelelően beállított anyagcsere mellett azonban visszafordíthatók. Bár a vérképben megnyilvánuló eltérések nem vezető tünetei a cukorbetegségnek, mégis több komoly szövődmény létrejöttéhez járulhatnak hozzá. Közreműködnek például az anaemia, fertőzések és hypercoagulabilitás kialakulásában.

A haematologiai szövődmények megnyilvánulnak a vörösvérsejtek (VVS), fehérvérsejtek (FVS) és vérlemezkék funkcionális, morfológiai és metabolikus változásaiban, továbbá a plazmafehérjék és a véralvadás eltéréseiben. A szövődmények egy része a tartósan fennálló hyperglykaemia következménye, továbbá a ketoacidosis által okozott súlyos metabolikus eltérések (elektrolitháztartás zavara, acidosis, dehidráció, veseelégtelenség) is hozzájárulnak a haematologiai változásokhoz. A metabolikus zavar helyreállítása a legtöbb esetben a vérparaméter normalizálódását is maga után vonja, így ezek a metabolikus állapot fontos indikátorai lehetnek.

Hyperglykaemia hatására a vörösvérsejtekben a haemoglobin glikálódik és oxigénhez való affinitása csökken, a sejtmembrán fehérje- és lipidmolekulái átalakulnak. A vörösvérsejt rigiditása nő, Heinz-testek képződnek, és metabolikus változások jönnek létre. Ezeknek az eltéréseknek az eredményeként a vörösvérsejtek hamarabb elpusztulnak, ami hozzájárul a diabeteses betegekben megfigyelhető anaemiához.

Kutyákban a glikált haemoglobin a hyperglykaemia időbeli fennállásának hasznos indikátora. Ezzel szemben macskákban a vörösvérsejtek csökkent glükózátteresztő képessége és a vörösvérsejtek rövidebb élettideje miatt kevésbé alkalmas monitorozásra (Miller 1995).

A glikált haemoglobin az oxigént erősebben köti és kevesebb oxigént szállít a szöveteknek, amely szöveti hypoxiát eredményez. A szöveti oxigéntenzió csökkenését a beteg megnövelt szívteljesítménnyel és a kapillárisokban fokozott vérátáramlással kompenzálja.

A haemoglobin oxidatív károsodás következtében történő denaturalódása és kicsoportosodása eredményezi a vörösvérsejtekben megfigyelhető Heinz-testeket. A macska haemoglobinja különösen érzékeny az oxidációra, ezért diabeteses macskák vérében gyakran mutatható ki Heinz-test (7–10%-ban, szemben az egészséges macskára jellemző 1%-al) (Christopher 1989). A Heinz-testet tartalmazó VVS-ek aránya ketoacidosisban jelentősen megemelkedhet, és akár a 70%-ot is elérheti (Christopher et al. 1995). A Heinz-testek kialakulása következtében a VVS-ek nem pusztulnak el, élettartamuk azonban csökken. A Heinz-testek létrejöttének biokémiai mechanizmusa nem tisztázott, azonban megfigyelhető, hogy a plazma ketonanyag szintje és a Heinz-testeket tartalmazó VVS-ek aránya korrelál (Christopher et al. 1995). Nagyobb arányban találtak Heinz-testeket nem diabeteses ketoacidosisos macskákban is, ami

arra utalhat, hogy ezen termék létrejötte inkább a plazma ketonanyag, mint glükózsztintjének a függvénye.

Az emelkedett glükózsztint a VVS anyagcserefolyamatait is befolyásolja a glikolízisben részt vevő egyes enzimek aktivitásának változtatásával, jelentősebb azonban a foszfofruktokináz acidaemiában történő gátlása, melynek következményeként csökken a haemoglobin működésében szerepet játszó 2,3-bisfoszfoglycerát termelése ketoacidosisban. A glükóz-6-foszfátáz enzim csökkent aktivitásáról szintén beszámoltak, ami növeli a VVS érzékenyégét az oxidatív stresszre (Kono et al. 1981).

A rugalmasság a VVS fontos, a membránhoz és a citoplazma viszkozitásához kötött tulajdonsága. A fő struktúrális fehérjének, a spektrinnek a glikálódása fehérje keresztkötéseket és konformációs változásokat eredményez, amelyek a VVS membránjának rigiditását fokozzák. A VVS rigiditásához hozzájárul többek között a membrán zsírsavprofiljának változása is. A cukorbetegségben megfigyelhető fokozott lipolízis a zsírszövetre jellemző telített zsírsavakat juttat a vérkeringésbe, melyeket a VVS a membránjába épít. A telített zsírsavak nagyobb aránya merevebbé teszi a membrán szerkezetet (Christopher 1995).

A VVS változásai folytán a vér viszkozitása is nő, ami hozzájárul a kiserek és a coronariák elváltozásaihoz.

A hyperglykaemia következményeként létrejövő emelkedett intracelluláris szorbittartalom a citoplazma viszkozitását növeli (Watala et al. 1992).

A diabetesben kialakuló metabolikus változások a FVS-ek válaszkészségét is befolyásolják és növelik a diabeteses állat fertőzésekre való fogékonyságát. A neutrophil granulocyták kemotaxisa, fagocitózisa, intracelluláris baktericid aktivitása csökkenhet. A lymphocyták mitogén stimulációra történő proliferatív válasza és sejtfelszíni antigénjeinek kifejeződése szintén csökkent lehet rosszul kontrollált diabeteses betegben (Valerius et al. 1982).

A FVS-ek rigiditása is nőhet diabetesben (Kelly et al. 1993) ami szintén hozzájárul a vér viszkozitásának növekedéséhez és microangiopathiák kialakulásához, emellett csökkenti a leukocyták emigrációs képességét és ezen keresztül a fertőzésekkel szembeni védekezésben betöltött szerepét.

A karbantartott diabeteses beteg FVS száma normális értéket mutat, ketoacidosisban azonban nem ritka a stresszleukogram, vagy fertőzések esetén a vérkép balra tolódása.

A diabetes a véralvadás folyamatára is befolyással van. A megfigyelhető hiperkoagulabilitás szerepet játszik a thromboembolia és a cardiovascularis következmények kialakulásában. A véralvadás minden folyamata befolyásolt: a thrombus kialakulása, gátlása, fibrinolízis, vérlemezke és endothelfunkció is.

A vérlemezkék aggregációs hajlama megnövekedett a tromboxan és fibrinogén fokozott kötésén keresztül, ami ugyanakkor a prosztaciklin csökkent kötési kapacitásával párosul (Ceriello 1993). A vérlemezkék hajlamosak az endotheliumhoz való kitapadásra is, amelyet elősegíthet az endothelium oxidatív károsodása, ezenkívül a vérlemezkék funkciója is romlik oxidatív stressz hatására.

A diabeteses beteg keringési rendszerének megváltozott jellemzői befolyásolják például az érprotézisek megtapadását is. Diabeteses kutyába ültetett szintetikus érgraftok lumináris felületén nagyobb arányban tapadtak ki vérlemezkék a megnövekedett aggregációs hajlam miatt. A pannusra húzódó endotheliumszerű sejteket is vizsgálták egy hónappal az implantáció után. A diabeteses betegek sejtjei törékenyek, sérülékenyek voltak és rosszul fedték a graftot. A kontroll csoport sejtjei azonban jobban tapadtak, alakjuk megnyúlt és az áramlás irányába rendeződött volt (Awad 1989).

Hyperglykaemia hatására a fibrin mennyisége is megemelkedik a vérplazmában, amely a vér viszkozitásának növelése mellett szintén hozzájárul a cardiovascularis következmények kialakulásához (Christopher et al. 1995).

Egyéb plazmafehérjék, például az albumin is glikálódik diabetesben. A glikált szérumfehérjék meghatározását szolgáló fruktózamin teszt a vércukorszint monitorozásának széles körben alkalmazott eszköze.

4.4. Késői szövődmények

A DM késői szövődményei humán vonatkozásban gyakoriak és komoly kihatással vannak a beteg állapotára, továbbá a halálozáshoz vezető okok között is említendők. Emberekben a késői diabeteses szövődmények kialakulásához 10–20 év, vagy ennél is hosszabb idő szükséges, ami részben magyarázza, hogy miért találkozunk ritkán ilyenekkel állatokban. A diabetes ezen felül túlnyomórészt az idősebb állatok betegsége, melyek a diagnózis felállítása után nem élnek átlagosan öt évnél tovább.

A késői szövődmények kialakulását egyrészt a hyperglykaemiás állapot következményeként létrejövő metabolikus rendellenességek okozzák, melyek sejtszintű strukturális és funkcionális változásokat hoznak létre, másrészt patológiás oktanú vascularis eltérések is szerepet játszanak az elváltozások kifejlődésében. Egyik mechanizmus sem magyarázza azonban a diabetes következményeként létrejövő összes késői elváltozást (Nathan 1993).

4.4.1. Metabolikus jellegű szövődmények

A késői metabolikus jellegű szövődmények elsősorban olyan szövetekben jönnek létre, melyek energiaellátása nem inzulinfüggő, ennek következtében közvetlenül hat rájuk a vérplazma emelkedett glükózsintje. A glükóz beépülése ezekben a szövetekben különféle mechanizmusokon keresztül megváltoztatja a normális anyagcsere-folyamatokat.

Kutyákban a diabetes krónikus szövődményei között kell említeni többek között a cataractát, a krónikus pancreatitist és a különböző szervrendszereket (vizeletkiválasztó rendszer, légzőrendszer, bőr) érintő gyakori és visszatérő fertőzőses megbetegedéseket (Falchuk és Conlin 1993).

4.4.1.1. CATARACTA, UVEITIS

A cataracta a leggyakoribb szövődmény diabeteses kutyákban. A szemlencse szövegek hóján a körülötte lévő folyadékból (csarnokvíz, üvegtest) táplálkozik. Energiáját szinte kizárólag glükózból fedezi, amit egyszerű diffúzió útján vesz fel. A lencserostok kifejlődésével párhuzamosan a lencses sejtek szervecskéi felszívódnak, köztük a mitokondriumok is, így az energiaellátás több mint 70%-a anaerob glikolízisből származik. A glükóz kis hányada (mintegy 5%-a) a polyol reakcióúton keresztül szorbittá alakul. A nagy mennyiségben jelen lévő glükózból nagyobb arányban keletkezik szorbit, amely nem diffundál át a sejtmembránon, hanem felhalmozódva ozmotikus gradienst képez és vizet von a sejtbe. A szorbit csupán lassan metabolizálódik fruktózzá, amely már képes elhagyni a sejtet.

Lencse indukálta uveitis alakulhat ki a túlérett cataracta reszorpciója következtében.

4.4.2. Cardiovascularis szövődmények

A metabolikus változásokon kívül a vascularis elváltozások is szerepet játszanak a cukorbetegség szövődményeinek létrejöttében. A diabeteses érfal strukturális és funkcionális változása régóta ismert. Oktánában szerepet játszik a megváltozott lipidanyagcsere, a véralkotók összetevőiben kialakult eltérések és az érfalak nemenzimatis glikálódása. Az érfal fehérjéihez irreverzibilisen kötődő glükóz glikozilációs végtermékek képződéséhez vezet az érfalban is, amely a kollagénláncok keresztkötését eredményezi. A keresztkötésű kollagének stabilabbak, ezért féléletidejük meghosszabbodik. Az extracelluláris mátrixproteinek (kollagén, laminin, fibronectin) megnövekedett mennyisége csökkenti az erek rugalmasságát és megváltoztatja a bazális membrán filtrációs képességét. Ismert, hogy inzulin hiányában hyperglykaemia esetén megváltozik az esszenciális zsírsavanyagcsere, mely a prosztaglandin E₁ és a prosztaciklin csökkent termeléséhez vezet. Megnövekszik viszont a tromboxan A₂ produkciója (Jamal 1990) az erek falában. Ezen változások feltehetően hozzájárulnak az érfal tónusának növeléséhez, amelynek következtében az áramlás gyorsul és helyi hypoxia lép fel. Másrészt viszont a haemoglobin és a 2,3-bisfoszfoglycerát molekula változása miatt romlik az oxigéntranszport, aminek következtében a kapillárisok tágulnak. Az erek elernyedése, akárcsak a plazma viszkozitásának növekedése a VVS-ek és thrombocyták fokozott aggregációs hajlamával együtt a kapillárisok áramlásának romlásához és a trombózishajlam növekedéséhez vezet. Ezen felül az erek fala fokozott mechanikai igénybevételnek is ki van téve a megnövekedett aggregációs hajlam miatt, amely kompenzatorikus strukturális változásokat idéz elő. Az erek falában felhalmozódott glikált termékek az erek permeabilitásának növekedését eredményezhetik. Mindezek a változások a szövetek rosszabb oxigénellátottságához vezetnek, amely a diabetes késői szövődményeinek szintén egyik alkotóeleme.

Emberekben a diabeteses érszövődmények két alaptípusra oszthatók fel, a diabeteses microangiopathiára és macroangiopathiára.

A diabeteses microangiopathia fő megjelenési formái emberben a retinopathia, nephropathia, és neuropathia.

4.4.2.1. MICROANGIOPATHIÁK

Diabeteses retinopathia

A retinopathia, amely a cukorbeteg emberekben kialakuló látásromlás, vagy vakság fő oka, általában a betegség hosszabb, 15–20 éves fennállása után manifesztálódik és a betegek legalább 80%-ában megfigyelhető. Kutyákban a betegség következményei sokkal enyhébbek, az esetek többsége csupán szubklinikai elváltozással jár. Kutyában nincs irodalmi adat diabeteses retinopathia következtében fellépő vakságról. Egyes szerzők szerint kutyában legalább ötéves diabeteses kór-előzmény fennállása után lehet retinopathiával számolni (Munana 1995). Az elváltozást mind spontán (Munana 1995), mind mesterségesen előidézett diabetesben detektálták (Bloodworth és Molitor 1965).

Kutyában a retinopathia gyakran csupán postmortem igazolható. Ha az elváltozások szemészeti vizsgálat során is láthatók, azok általában a retina ereit érintik. A retina ereinek elváltozása magában foglalja a vénák kitágulását, átmérőjének szabálytalanságát, kanyargós lefutását, a kapillárisok microaneurizmáit és a különböző méretű fokális haemorrhagiákat. Az elváltozások a hátulsó póluson feltűnőbbek. Ezen felül a tapetum hyperreflektív volta és a retina fokális degradációja is szembetűnő. Előrehaladottabb folyamat esetén exsudatív chorio-retinális léziókat is leírtak (Monti és Bellan 1976). A diabeteses retinopathia kialakulásához feltehetően hozzájárul a fehérjék nemenzimatis glikálódása is, amely a retinában futó kapillárisok bazális membránjának megvastagodását okozza, emellett növeli a kollagén és egyéb fehérjék immunogenitását. A DNS glikálódása a sejt életciklusának rendellenességeit okozza. A kutyákban megfigyelt folyamatok hasonlóak a humán retinopathia korai jelenségeihez. Ezt az állapotot nonproliferatív retinopathiának is nevezik.

A diabetes következtében fellépő retinopathia kialakulása lassítható jól beállított vércukorszinttel.

Diabeteses nephropathia

Cukorbeteg emberekben talán a legsúlyosabb késői szövődmény a diabeteses nephropathia, amely a betegek mintegy 25%-ában alakul ki, és az esetek kétharmadában veseelégtelenség is jelentkezik. Nephropathia a humán diabeteses betegekben az 1-es és 2-es típusban megközelítőleg egyforma gyakorisággal jelentkezik

és a betegség megállapítása után mintegy 12–20 évvel alakul ki. A folyamat első észlelhető jele a microalbuminuria, mely idővel macroproteinuriába megy át. A vese további károsodásával párhuzamosan a fehérjevizezés is súlyosabbá válik, végül kialakul a végstádiumú veseelégtelenség. Jellemző a progresszív glomerularis elfajulás.

Spontán diabeteses kutyákban (Munana 1995) is igazoltak glomerularis elváltozásokat. Ez a szövödmény szintén ritka kutyákban, feltehetően hasonló okból, mint azt a retinopathiánál is említettük.

Diabeteses nephropathiára emberben és kutyában is jellemző szövettanilag a mesangium megvastagodása a glomerulus kapillárisainak elzáródása következtében. Esetenként megfigyelhető a Bowman-tok bazális membránjának megszélesbedése, a glomerulus-kapilláris alaphártyájának megvastagodása, alaphártya-nyúlványok kialakulása, a tubulusok alaphártyájának megvastagodása és a juxtaglomerularis artéria sclerosisa is.

A folyamatnak valószínűleg több összetevője van: extracelluláris mátrixfehérjék szintézise, hemodinamikai változások és immunológiai folyamatok egyaránt hozzájárulnak a vesefunkció romlását okozó anatómiai változásokhoz.

A nephropathia terápiájának alapja – akárcsak retinopathia esetén – a vércukor tartós normalizálása, emellett a vérnyomáscsökkentés és az alacsony fehérjetartalmú diéta, melyek a nonspecifikus glomerulus-megbetegedések gyógyításában is szerepet játszanak.

Diabeteses neuropathia

A perifériás idegek diabeteses emberekben történő károsodásának előfordulása 5–60% közötti. A nagy eltérés oka a neuropathia kritériumainak felállításában keresendő. Ha a csupán elektrofiziológiai vizsgálatokkal detektálható szubklinikai eltéréseket is neuropathiaként definiáljuk, az incidencia megközelíti a 100%-ot (Jaspan 1989).

Diabeteses kutyában, jóval gyakrabban azonban diabeteses macskában is jól ismert az elsősorban a hátsó lábakon jelentkező szimmetrikus polyneuropathia. A macska jellemzően a tarsusán jár, a patellareflex csökkent és a helyeződési reakciók zavartak. Kutyákban jellemző a progresszív szimmetrikus paraparesis, a testtartási reflexek és a gerincvelői reflexek tompulása, izomatropia (Misselbrook 1987). Súlyosabb esetekben a folyamat az első lábakat is érinti, tetraparesist eredményezve.

Szubklinikai neuropathiát diabeteses kutyában is igazoltak (Steiss et al. 1981). Egy kísérletben öt normális neurológiai lelettel rendelkező spontán diabeteses kutya elektrofiziológiai vizsgálata során kimutatható volt az idegek károsodása.

Diabeteses emberekben a szenzoros polyneuropathia a leggyakoribb perifériás idegrendszeri károsodás. Zsibbadással, bizsergéssel, égető érzéssel járó paresthesia jelentkezik elsősorban a lábfejekben. Állatokban a szenzoros dysfunctio igazolása nehéz, de az érzőidegrostok vezetési sebességének lassulása utalhat a jelenségre (Steiss et al. 1981).

Az agyidegek bénulása gyakran előfordul humán diabeteses betegekben. Az agyidegek érintettsége nem jellemző diabeteses állatban, bár egy kutyában feljegyeztek Horner-szindrómát és dysphagiát a hátsó végtagok gyengesége mellett (Misselbrook 1987).

A neurológiai tünetek hátterében primer folyamatként valószínűleg az axonok degenerációja áll, ezt követi a demyelinisatio (Jaspan 1989). Az idegkárosodásban szerepe lehet a nemenzimatis glikálódásnak is, emellett vascularis folyamatok is felelőssé tehetők. A megváltozott zsírsavanyagcsere során keletkező tromboxan A_2 és prosztaciklin vasoconstrictiohoz és hypoxiához vezet, továbbá károsodhat az idegsejtmembrán, a myelinhüvely és a membránenzimek működése is (Jamal 1990).

A diabeteses neuropathia előfordulásának esélyét, akárcsak a többi szövödményét, jelentősen csökkenti a jól szabályozott vércukorszint.

4.4.2.2. MACROANGIOPATHIÁK

A macroangiopathiák fontosságát elsősorban humán egészségügyi vonatkozásai jelentik, amelyet a kórképpel kapcsolatba hozható morbiditási és mortalitási adatok is alátámasztanak.

Mivel az érrendszeri szövödmények háttere, következményei a humán medicina átfogóan tanulmányozott területei közé tartoznak, a kórkép patofiziológiájának teljesebb részletezéséhez is elsősorban ezek az adatok szolgáltatnak alapot.

Míg a diabeteses microangiopathiák kialakulásában a dysglykaemia szerepe döntő, addig a macroangiopathiák létrejöttében több tényező is szerepet játszik. A kóros anyagcsere folyamatok mellett a magas vérnyomás is hozzájárul a kórképhez, míg az elváltozások közös gyökere a 2-es típusú cukorbetegségre jellemző inzulinrezisztencia és az azt kísérő hyperinsulinaemia.

A közepes és nagy artériák atheroscleroticus elváltozásai diabetesben gyorsabb ütemben alakulnak ki. A vérellátás romlásához emellett hozzájárul az érfalak intímájának fibrosus jellegű megvastagodása, a media sclerosisa, az artériák spasmus-készsége és a kollaterálisok csökkent reakciókészsége.

Az érlemezésedés kórfolyamatában négy sejttípus játszik fontos szerepet, a thrombocyták, a monocyta-macrophagok és az érfal simaizom- és endothelsejtjei, amelyek mindegyikére közvetlenül hat az inzulin mennyiségének növekedése. Régóta ismert tény, hogy az inzulin ezen hatásai koncentrációjának növekedésével exponenciálisan fokozódnak (Stout et al. 1975). Nő a thrombocyták adhézíós és aggregációs hajlama, a monocyta-macrophagok lipidphagocytosisa, az érfalak simaizomsejtjeinek migrációja, proliferációja és a kiserek endothelsejtjeinek rendezetlen kötegekben való felszaporodása. Az endothelsejtek megnyúlnak, a fokozott glikáció miatt merevvé válnak és nő az LDL (low density lipoprotein) endocitózissal való felvétele. Emellett nő a vasodilatator tulajdonságú prosztaciklin (PGI₂) és a fibrinolízisben szerepet játszó szöveti típusú plazminogén aktivátor (t-PA) szekréciója.

Az endothel diabetesben való zavart működésnek másik oka a nitrogén-monoxid anyagcsere megváltozása. A nitrogén-monoxid jelenléte az érlemezésedés folyamata ellen hat. Gátolja az ér simaizomsejtjeinek kóros szaporodását, vándorlását, tónusát. Egyensúlyt biztosít az értónus, a véralvadás, a gyulladás folyamataiban és a vérnyomás szabályozásában. Cukorbetegségben a nitrogén-monoxid csökkent mennyiségben termelődik és szabadul fel az endothelben, ezen kívül a betegségben jellemző módon nagyobb mennyiségben jelen levő szabadgyökök is hatástalanítják a nitrogén-monoxidot peroxinitritté alakítva.

A magas vérnyomás és az inzulinrezisztencia kapcsolatát elemezve kimutatták, hogy a szimpatikus aktivitás fokozásával is kiváltható inzulinrezisztencia és az inzulinnek központi szerepe van a szimpatikus aktivitás szabályozásában (Jamerson et al 1994). Inzulinrezisztencia esetén a hyperinsulinaemia az ionpumpák összehangolt működésének megzavarása révén megváltoztatja az intracellularis ionmiliót. A Na⁺-H⁺ pumpa fokozott működése következtében a sejtben felszaporodik a Na⁺-ionok mennyisége, ezzel együtt csökken a H⁺-ionoké, így összességében intracellularis alkalosis alakul ki hypernatraemia mellett. Mind az alkalosis, mind a nátrium felszaporodása fokozza az intracellularis összehúzódásokat, ami a kalciumraktárakból történő kalcium felszabadulását okozza, a szabaddá vált kalcium pedig további

simaizom összehúzódást és vasoconstrictiót vált ki. A szimpatikus aktivitás ilyen módon való fokozódása tovább növeli az inzulinrezisztenciát így circulus vitiosus alakul ki, ami hipertóniához vezet. A szimpatikus aktivitás fokozódása emellett emeli a perctérfogatot, a vértérfogatot, a reninválasztást és az érösszehúzódást.

Az érfalakban kialakuló plakkok keletkezésben a dyslipidaemiák is fontos szerepet játszanak. A zsírsavak és ketontestek túlsúlya a vérben pedig hozzájárul az inzulinrezisztenciához. Az inzulinrezisztencia a microsomalis transzferproteinek gátlása révén zavarja a VLDL (very low density lipoprotein) transzportfolyamatait a májban. A VLDL hosszan kering a vérben, lebomlási termékeinek nagy triglycerid tartalma pedig jelentős mértékben hozzájárul az atherogenesishez. Inzulinrezisztencia esetén a triglyceridet bontó lipoprotein-lipáz működése gátolt, ezért a hypertriglyceridaemia az alacsony HDL (high density lipoprotein) szint mellett nagyobb kockázatot jelent, mint a hypercholesterinaemia (Halmos és Jermendy 2002).

Atherosclerosis kutyákban is előfordul. Az érintett coronariák gyakran jelentősen megvastagodnak, sárgásfehér színűek, lumenük beszűkült. Nem jellemző azonban plakkok kialakulása vagy a thrombosis.

Atherosclerosis jellemzően idősebb állatokban mutattak ki, melynek kialakulása a vér emelkedett koleszterin és triglycerid szintjére vezethető vissza elsősorban hypothyreosis és diabeteses állatokban.

A pajzsmirigy alulműködése nem jelenti szükségszerűen az atherosclerosis megjelenését. A jelenséget csupán azokban a betegekben figyelték meg, melyek vérében a VLDL szint emelkedett volt, emellett a lipoprotein receptorok száma lecsökkent, aminek következtében a szövetek lipidfelvétele is csökkent. A megemelkedett lipoprotein koncentráció pedig az artériák falában zsírlerakódásokat hozott létre.

Alacsony tiroxinszint mellett a csökkent inzulin-koncentráció szintén a lipolízis irányába hat, amely a következményes hyperlipidaemián keresztül atherogen hatású (Bennett 2002). Egy vizsgálat szerint az atherosclerosis 53-szor gyakoribb volt diabeteses kutyákban, mint más populációban (Hess et al. 2003).

Az inzulin artériából származó simaizomsejt-kultúrában a fiziológiának megfelelő koncentrációban stimulálja a sejtek szaporodását. Ezen kívül fokozza a simaizomsejtek migrációját, növeli a koleszterinszintézist és elősegíti az LDL kötődését a simaizomsejteken levő LDL-receptorokhoz.

A nagyerek endothelsejtjeiből származó sejt kultúrában a sejtek rezisztensek voltak az inzulin hatásaira, ugyanakkor a hyperglykaemia gátolta szaporodásukat.

Inzulin adagolása megemelkedett lipid szintézist okozott kutyák artériáiban. Az említettek alapján a hyperinsulinaemia szintén elősegítheti az atherosclerosis kialakulását (Stout 1991, Sottiaux 1999).

Az atherosclerosis diagnosztizálása kutyában nem egyszerű. Azon állatok prognózisa, amelyekben az érszűkület következtében tünetek is jelentkeznek, kedvezőtlen.

A jelenség gyakrabban fordul elő törpeschnauzerben, dobbermann pincserben és labrador retrieverben (Ettinger és Feldman 2005).

Cardiopathia diabetica

A szív diabetesben megfigyelt teljesítőképesség-csökkenésének oka a koszorúér elmeszesedésen kívül az energiatermelő folyamatok kisiklása.

A szívizom energiaszükségletét az ATP (adenozin-trifoszfát) biztosítja. Cukorbetegségben még ischaemia fennállása nélkül is csökken a szívizom glükóz- és tejsavfelvétele, viszont nagyobb a zsírsavak és ketontestek felhasználásának mértéke, mint egészséges anyagcseréjű egyéneknél. Cukorbetegségben ugyanis emelkedik a plazma szabad zsírsavszintje, mert az inzulin kis koncentrációja miatt csökken a zsírsejtek lipolízisének gátlása. A magas szabad zsírsav- és ketontest-koncentráció a glikolízis gátlásának irányába hat. Cukorbetegségben ezért a Szent-Györgyi–Krebs ciklusba lépő acetyl-CoA elsősorban nem glikolízisből, hanem a zsírsavak béta-oxidációjából származik. A zsírsavak égése azonban lényegesen oxigénigényesebb folyamat, mint a glikolízis. Ezért hypoxiás vagy ischaemiás körülmények között a zsírsavégés is zavart szenved. Az anyagcsere az anaerob glikolízis irányába tolódik, elégtelen mennyiségű ATP termelődik, ugyanakkor proton és tejsav halmozódik fel, amelyek nagymértékben károsítják a szívizomsejtek működését. A fenti folyamatok eredőjeként cukorbetegségben gyakrabban fordul elő szív működési zavar és pangásos szívgyengeség (Pogátsa 2000).

A fehérjék nemenzimatis glikációja is hozzájárul a szív- és érrelváltozásokhoz diabetesben.

A kollagénrostok glikációja következtében megszorodik azokban a keresztkötések száma, ezért fokozódik az ér- és kamrafalak merevsége. Az érfalak merevsége miatt romlik a szélkazan funkció, ami a systolés vérnyomás emelkedéséhez vezet.

A kamrafalak merevsége következtében pedig csökken a szívkamrák diastolés telődése, ezáltal romlik a szív teljesítőképessége (Asif et al. 2000, Liu et al. 2003).

A haemoglobin glikációja következtben fellépő működési zavar növeli a vörösvérsejtek merevségét, ezáltal fokozódik a vér viszkozitása, továbbá csökken a haemoglobin oxigénszállító képessége.

A szérumapolipoproteinek glikációja csökkenti az LDL-koleszterin és növeli a HDL-koleszterin ürítését, amely károsan befolyásolja a lipidösszetételt a vérben.

A fibrinogén glikációja csökkenti annak túlélését, a fibrin glikációja pedig fokozza annak elbomlását, ezáltal fokozódik a szervezetben a trombózishajlam (Pogátsa 1997).

Az autonóm idegrendszerre is kiterjedő neuropathia diabetica a szimpatikus és paraszimpatikus cardialis rostokat is károsítja, ami a szív részleges, vagy teljes denervációját idézheti elő, következményesen romlanak a szív alkalmazkodási mechanizmusai. A denerváció folyamánként ezen felül oxigénigényesebbé és pazarlóbbá válik a szív működés.

A koszorúerek microangiopathiája fokozza az ischaemiás és hypoxiás elváltozásokat a szívizomzatban. Megváltozik cukorbetegségben az erek reakcióképessége is, amely tovább súlyosbítja az elváltozásokat. A folyamat háttere nem ismert részleteiben, szerepet játszik benne azonban a fokozott endothelintermelés és az érfal megváltozott prostaglandin-anyagcsereje.

Kísérletes tanulmányok alapján kutyák krónikus diabetesében a bal kamrai compliance csökkent, ugyanakkor megnövekedett az interstitialis kötőszöveti elemek mennyisége. A mechanikai változások hátterében a miozin ATP-áz csökkent mennyisége, a miozin izoenzimek arányának eltolódása és a kalcium-ionáram megváltozása áll. Ezen folyamatokkal párhuzamosan az adrenerg és kolinerg stimulációra adott válasz is eltérő. Az említett biokémiai eltérések hátterében feltehetően a diabeteses szív szénhidrát és lipid anyagcserejében történt változások állnak (Fein és Sonnenblick 1994).

4.5. A diabeteses beteg kezelése

Megfelelő diéta segítségével szabályozható a testsúly, továbbá a tápanyagok béltraktusból való felszívódása időben elnyújtható, ezáltal elkerülhetők a nagyobb vér-

cukorcsúcsok. Legcélravezetőbb, ha kiszámítjuk a kalóriaigényt és szabályozzuk a kalóriefelvételt összetett szénhidrátok és nem emészthető rostok nagyobb arányú alkalmazásával. A kalóriaigény macskáknál és kistestű kutyáknál napi 250–290 kJ/ttkg, nagytestű kutyáknál 210–250 kJ/ttkg (Bhanot et al. 1994), ami idősebb korban csökken. A diabeteses kutya számára ajánlott tápban az étkezési rost a szárazanyag tartalom legalább 15%-át teszi ki, az energiatartalomnak pedig legföljebb 30%-át képezi zsír, ami szárazanyagra vonatkoztatva nem lehet több 15%-nál. Az energiatartalom legalább felét komplex szénhidrátok képezik: keményítő (gabona, burgonya, tésztafélék, kenyér), és glikogén (hús, máj) (Maeshiba et al. 1997).

A napi étkezés több részre való elosztása szintén segít a vércukorcsúcsok megelőzésében, ahogy a testmozgás, a fizikai igénybevétel is hozzájárul a vércukorszint normalizálásához.

Az 1-es típusú diabetesben a kezelés alapja az inzulin parenteralis adagolása. A terápiában szarvasmarha, sertés és humán inzulint használnak keverék, vagy monospecies formában. Az inzulinkészítmények hatásának kezdete, tartama és intenzitása eltérő. Állatgyógyászati célra előállított inzulinkészítmény a sertés inzulint tartalmazó Caninsulin, melynek hatástartama közepes.

A humán gyógyászat nem inzulindependens diabetesben több különböző hatásmechanizmusú szájon át szedhető gyógyszert is alkalmaz monoterápiában, vagy kombinációban, esetleg inzulinnal együtt.

Egyeseket (pl. glipizid) használnak diabeteses macskákban, kutyákban való alkalmazásukkal kapcsolatban azonban kevés az irodalmi adat.

A humán gyógyászatban az orális antidiabetikumok három fő csoportját használják (Fövényi et al. 2001):

- szénhidrát felszívódást csökkentő szerek (pl. acarbose),
- inzulinhatást fokozó vegyületek (más néven inzulinérzékenyítők) [biguanidok, (pl. metformin), thiazolidindionok, peroxisomaprolifrátor-aktivált gamma-receptor agonisták],
- inzulinelválasztást serkentő szerek (pl. gliclazid). Egyes szerek kiváltják az inzulinelválasztást (pl. szulfanilureák, neglitinidek, N-acilfenilalanin), míg mások fokozzák az inzulin termelését (bizonyos aminosavak, pl. arginin, transzmitterek pl. az acetilkolin, és peptidek, mint a glukagon hormon).

Az acarbose enzimgátlás útján késlelteti a szénhidrátok emésztését és mérsékli azok felszívódását ezáltal csökkentve a szénhidrátok fogyasztását követően jelentező vércukorcsúcsot emberben. Az acarbose az alfa-glükozidázokat (szacharáz, maltáz, izomaltáz, glukomaltáz, laktáz stb.) gátolja, melyek a vékonybél bolyhain fejtik ki hatásukat. Ezek az enzimek az oligoszacharidokat és komplex szénhidrátokat bontják monoszachariddá (glükózzá), amely felszívódik. Az acarbose kompetitív reverzibilis antagonizmusának eredményeként az összetett szénhidrátok bontása mérséklődik, míg a glükózmolekula felszívódása változatlan marad. A szénhidrátok felszívódása így a vékonybél distalis részein történik. A vastagbélbe jutó szénhidrátokat a baktériumflóra illó zsírsavakra bontja. Flatulencia és hasmenés előfordulhat a vastagbélbe jutó emésztetlen szénhidrátok miatt (Behrend 2002). Az acarbose nem okoz malabsorptiót és nem befolyásolja a máj glükóztermelését sem. A gyomor-bél csatornából alig szívódik fel. Elsősorban a bélben bomlik le, majd a bélsárral és vizelettel távozik.

A biguanidokhoz tartozó metformin a sejtek inzulinérzékenységének növelésén keresztül fejt ki vércukorcsökkentő hatását. Ezen felül késlelteti a cukor felszívódását a gyomor-bél csatornából, ugyanakkor csökkenti a májban folyó glükoneogenezist (Féry et al. 1997, Cusi et al. 1996) és növeli a zsír- és izomszövetben a glükóztranszportot (Lenhard et al. 1997). Emellett csökkenti a vér VLDL (very low density lipoprotein) és összkoleszterin tartalmát. Egészséges egyéneknél nem csökkenti a vércukor értéket.

A biguanidok lipid- és szénhidrátanyagcserére kifejtett hatásának molekuláris mechanizmusa nem tisztázott minden részletében. Ismert azonban, hogy a metformin elősegíti a katabolikus folyamatokat, fokozza az aerob szénhidrátbontást, a zsírbontást és zsírsavoxidációt (Lenhard et al. 1997).

A metformin gastrointestinalis diszkomfort érzést okozhat, többek között étvágytalanságot, hányingert, hasmenést (Belcher et al. 2005). Különböző tápanyagok, többek között a B₁₂ vitamin felszívódása károsodhat, amelynek következményeként megaloblastos anaemia alakulhat ki a szer hosszú időn át történő alkalmazása esetén. Emberekben a tejsavas acidosis ritka, de komoly, olykor fatális mellékhatása a metforminnak, melyet a glükoneogenesis csökkenése mellett a perifériás szövetekben megnövekedett anaerob glikolízis számlájára írnak (Féry et al. 1997).

A metformin felszívódik a bélrendszerből és változatlan formában ürül a vizelettel.

A gliclazid a szulfanilureák családjába tartozó hypoglykaemiás szer. A szulfanilureák serkentik az inzulintermelést a hasnyálmirigy béta-sejtjeiben, ugyanakkor gátolják a májban folyó glükogenolysist és glükoneogenesisist. A célsejtek inzulin-érzékenységét is fokozzák, mivel segítik az inzulin kötődését a sejtfelületi receptorokhoz. Ezen felül kimutatták, hogy a célsejtek inzulinreceptorainak száma is megnő in vitro (DeFronzo 1999).

A szulfanilureák elsősorban gyomor-bélrendszeri mellékhatásokat okozhatnak, többek között hányingert, hányást, étvágytalanságot, vagy túlzott étvágyat, hasmenést (Fövényi et al. 2001).

A gliclazid gyorsan felszívódik a tápcsatornából, majd a májban bomlik és a vizelettel távozik akárcsak a többi szulfanilurea a gliquidon kivételével, amely a májban történt metabolizáció után teljes egészében az epével ürül (Fövényi et al. 2001). A szulfanilureák metabolitjainak nincs számottevő hypoglykaemiás aktivitása.

4.6. Endothelium

Endothelium a szervezetben szinte mindenütt található. Figyelembe véve mennyiségét, felszínét, sejtjeinek számát, szerteágazó funkcióit, a test legnagyobb belső elválasztású mirigyének tekinthető. Az endothelium központi szerepet játszik a vasomotorika szabályozásában, a véralvadásban, az angiogenesisben, a gyulladással és az immunológiai folyamatokban. Az endotheliális sejtek barriert formálnak a vér és a simaizomsejtek között. Rajtuk keresztül transzportálódnak különféle sejtek és molekulák a vér és a szövetek között.

Az endothelium reagál a vérnyomás, véráramlás és a gázkoncentráció változására. Könnyen stimulálható, gyorsan reagáló rendszer, amely képes saját funkciójának gyors aktiválására és megváltoztatására is.

Mechanikai sérülés, vagy a funkcionális integritás megszakadása megzavarja a mikrokörnyezet homeosztázisát, amely patológias állapotok kifejlődéséhez vezethet. Emberben szerepe lehet például a magas vérnyomás, a thromboticus léziók kialakulásában, az atherogenesisben, a szövetek és szervek perfúziójának zavarában.

Az endothelium számos anyagot is temel, melyek különféle fiziológias folyamatokban vesznek részt (Katona et al. 2006, Wnuczko és Szczepanski 2007). Ugyan-

akkor az endothelium funkcióját befolyásolja, „genetikailag programozza” annak a szervezetben, de még egy szerven belül való elhelyezkedése is, vagyis az endothelsejt funkcióját meghatározza a környezete (Stevens et al. 2001).

Központi szerepet tölt be a cardiovascularis rendszer szabályozásában különféle vasoaktív molekulák termelésén és kibocsátásán keresztül. Potens vasodilatator tulajdonsággal bír az endothelium által termelt nitrogén-monoxid, a prosztaglandin I₂ és az endotheliumhoz kötött hiperpolarizáló faktor. Vasoconstrictor hatású az endothelin-1, az angiotenzin II és a tromboxan A₂ (Bellien et al. 2008).

A fenti molekulák közül a véralvadásban is szerepet játszik a prosztaglandin I₂ és a tromboxan A₂, de több egyéb molekula is, ilyenek a von Willebrand-faktor, a fibrinogén, a szöveti faktor, és a trombomodulin. A trombomodulin szerepét számos egyéb folyamatban is igazolták, például gyulladásban, thrombosisban, carcinogenesisben, metasztázisok kialakulásában, ahol mennyisége pozitív prediktív és prognosztikus faktorként is figyelembe vehető (Hanly és Winter 2007).

A fibrinolízisben fontos a szöveti plazminogén aktivátor és a plazminogén aktivátor inhibitor.

A gyulladással járó folyamatokban vesznek részt a szelektinek és az adhéziónak a molekulák, amelyek lehetővé teszik a leukocyták kitapadását az endotheliumhoz (Fisher 2008).

A vörösvérsejtek endothelsejtjeihez való tapadása adhéziónak a molekulákon keresztül valósul meg. Az adhéziónak a molekulák expressziójának mértéke döntő faktora a vörösvérsejtek kitapadása miatt kialakult érelzáródásnak (Cartron és Elion 2008).

Az endothelium részt vesz az angiogenesisben is, amely akár fiziológiás, akár patológiás talajon jön létre. A folyamatot a regulátor aktivitással rendelkező molekulák aránya határozza meg. Ha az angiogenesiset indukáló molekulák kerülnek túlsúlyba, megindul az érképződés az „angiogen switch” elmélete alapján. Az egyik legismertebb angiogen faktor az endothelialis növekedési faktor (Ribatti 2005).

Az angiogenesisben részt vesz a trombocita eredetű növekedési faktor is (platelet derived growth factor), emellett döntő szerepet tulajdonítanak a molekulának a mesenchymalis sejtek proliferációjában és migrációjában. Szerepet játszik a tumorképződésben és progresszióban is. A molekula képződésében jelentkező zavar gyakran társul különféle kóros állapotokhoz, többek között az atherosclerosis-hoz, a tüdő és a vesék fibroproliferatív betegségeihez (Mantur és Koper 2008).

Az angiogenesis további meghatározó molekulája a szöveti növekedési faktor-béta.

Az endothelium permeabilitását befolyásolják a glikációs végtermékeket kötő glikációs végtermék receptorok. Glikációs végtermékek a cukormolekulákkal kapcsolódott fehérjék és zsírok, amelyek jellemzően cukorbeteg emberek ereiben fordulnak elő. Emberekben hozzájárulnak számos micro- és macrovascularis komplikáció és az atherosclerosis kialakulásához. Keresztkötéseket alakítanak ki az alaphártya mátrixának molekulái között, és elfoglalják a glikációs végtermék receptorokat. A kötésben lévő receptorok megnövelik az endothelium átjárhatóságát a makromolekulák számára. A glikációs végtermékek ezen felül gátolják a nitrogén-monoxid hatását az endotheliumban és reaktív oxigénradikálok képződését eredményezik (Goldin et al. 2006).

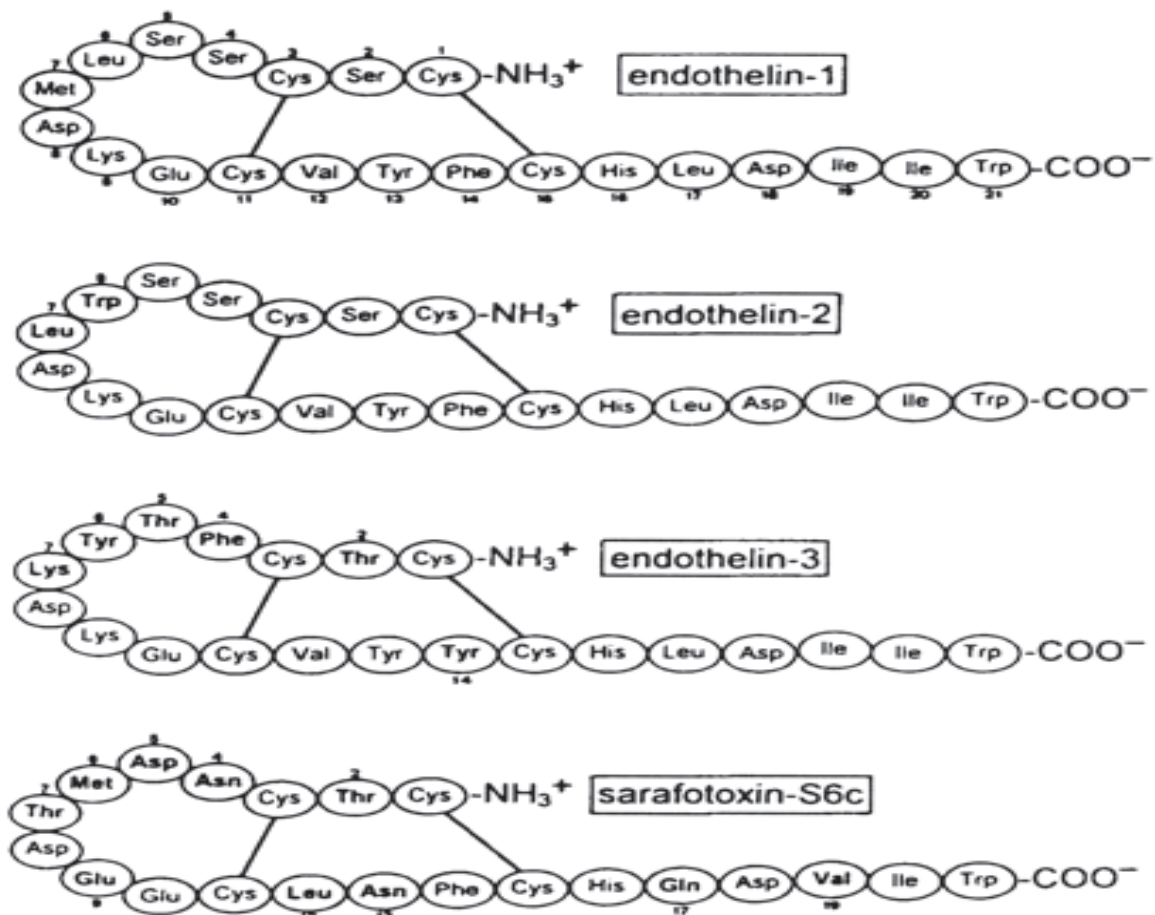
4.7. Endothelin

A humán endothelinek családjába három, szoros szerkezeti rokonságot mutató 21 aminosavból álló endothelin izopeptid tartozik (ET-1, ET-2, és ET-3). Egy negyedik típusú endothelint is kimutattak rágcsálókban, amely feltehetően a humán ET-2 homológja (Masaki 2004, Motte et al. 2006). Az ET-2 két aminosavban, az ET-3 hat aminosavban tér el az ET-1-től. Mindegyiket külön gén kódolja, melyek az 1-es, 6-os és 20-as kromoszómán helyezkednek el (Motte et al. 2006).

Ebbe a molekulacsaládba tartoznak az endothelinekkel strukturális hasonlóságot mutató *Actractaspis engaddensis* kígyó mérgeiből izolált, cardiotoxikus sarafotoxinok is (Brunner et al. 2006), amelyeket az endothelinek kutatásában a molekula analógjaként alkalmaznak.

Az endothelin-1 a legerősebb érszűkítő hatású anyag, melyet Yanagisawa és munkatársai izoláltak és karakterizáltak endothel-sejtkultúra felülcszójából 1988-ban (Yanagisawa et al. 1988).

Az endothelin-1 a cardiovascularis rendszerben betöltött szerepe miatt kiemelkedő fontosságú és intenzíven tanulmányozott molekula. Kimutatták emberből, sertésből, patkányból, egérből, szarvasmarhából és ezt az izotípust igazolták kutyákban is (Masaki 2004).



1. ábra A különböző endothelin izoformák és a sarafotoxin szerkezeti felépítése

Az ET-1 fő forrása az endothelium, de sok egyéb sejttípus is termeli, pl. a vese podocytái, tubularis epithel és mesangialis sejtjei, a központi idegrendszer idegsejtjei, postganglionaris szimpatikus neuronok, májsejtek, fibrocyták, fehérvérsejtek és monocyták/macrophagok. Bizonyos körülmények között, például a gyulladásozó reakció bevezető szakaszában az erek simaizomsejtjei és a tüdő epithelsejtjei is szintetizálják (Kirkby et al. 2008, Schneider et al. 2007).

Az ET-2, melyet emberben, sertésben, egérben mutattak ki (Masaki 2004), elsősorban a vékonybélben, vastagbélben, petefészekben, méhben termelődik, de megtalálták az agyban és a vesében is (Schneider et al. 2007).

Az ET-3-at, amelyet emberben, sertésben, patkányban és nyúlban igazoltak (Masaki 2004), izolálták patkány agyban, agyalapi mirigyben, tüdőben, vékonybélben. A monocyták/macrophagok és a vese tubularis sejtjei szintén termelik, azonban jóval kisebb mennyiségben, mint az ET-1-et.

Az emberi szív mindhárom endothelin molekulát termeli.

Az endothelin molekula szintézise részleteiben ismert. Az ET-mRNS közreműködésével képződik a mintegy 200 aminosav hosszúságú prekursor preproendothelin molekula, amelyből a szignál szekvencia leválasztása után keletkezik a sejtben a 38–41 aminosav hosszúságú proendothelin, amelyet az endothelin konvertáló enzim (ECE) alakít a végleges, aktív formává (Motte et al. 2006, Schneider et al. 2007).

Az ECE-t először patkány tüdejéből sikerült izolálni (Takahashi et al. 1993). Azóta már kiderült, hogy a leginkább az endothelben, tüdőben, ovariumban, testisben és mellékvesevelőben expresszálódó enzim egy membránhoz kötött metalloproteáz, amely endopeptidáz aktivitása segítségével elhasítja a proendothelin 21-es triptofánja és 22-es valinja közötti peptidkötést. Az ECE sejten belüli elhelyezkedését tekintve két különböző membrántípusba ágyazódhat: az ugyanazon sejt által termelt („endogén”) proendothelint bontó ECE típus a Golgi-komplexben, míg a más sejtek által szintetizált („exogén”) molekulát hasító enzimtípus pedig a sejthártyában található. A különböző proendothelinek számára több ECE izoforma (ECE-1, ECE-2) is létezik. Mind az ECE-1, mind az ECE-2 sokkal hatékonyabban alakítja át a proendothelin-1-et, mint a többi izoformát. Mindkettő ECE izoforma működése felfüggeszthető foszforamidok adásával.

Az ET-1 termelését stimulálja maga az ET-1, az angiotenzin II, catecholaminok, cardiotropin-1, trombin, növekedési faktorok, citokinek, szabadgyökök, inzulin, hypoxia (Kirkby et al. 2008, Motte et al. 2006). Az erekben fellépő nyírófeszültség további moduláló tényezőt jelent az endothelin-1 szintézisében: míg az alacsony nyírófeszültség (5 dyn/cm²) kifejezetten növeli, addig a magasabb nyírófeszültségek (25 dyn/cm²) inkább csökkentik az ET-mRNS expresszióját (Sharefki et al. 1991, Malek és Izumo 1992). Ugyanakkor az erek szintjén találkozhatunk még két fontos serkentő stimulussal, a pulzatilis nyújtással (Sumpio és Widman 1990) és az ischaemiás történésekkel.

Az ET-1 termelését gátolják többek között a nitrogén-monoxid, natriuretikus peptidek, prosztagalandinok, heparin (Kirkby et al. 2008). Az első három vegyület közös vonása, hogy mindegyik cGMP (ciklikus-guanozin-monofoszfát) mediálta transzdukcióval fejt ki hatását (Emori et al. 1993). A heparin a proteinkináz-C gátlásán keresztül ugyancsak csökkenti az ET-mRNS szintjét.

Az összes endothelintermelésre képes szövet rendelkezik valamilyen típusú ET receptorral, ami az ET-nek, mint lokális autokrin és parakrin faktorként ható vegyü-

letnek a szerepét emeli ki, míg az, hogy ET-1 kötőhelyet találtak olyan szövetekben is, melyekben nem sikerült az ET-mRNS-t kimutatni, az ET endokrin funkciójára utal. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy az endothelialis sejtek az endothelint túlnyomórészt abluminálisan bocsátják ki (Motte et al. 2006). A kibocsátott ET-1-nek csupán kis hányada mutatható ki a plazmában, amely nem alkalmas az ET-1 aktivitásának jellemzésére.

Az ET-1 nemcsak különböző ingerek hatására, de konstitutívan is termelődik, ilyen például az erek endothelsejtjeiben folyó ET-1 szintézis. A konstitutív termelődés géntranszkripció szinten szabályozott. Az ingerek kiváltotta szintézis proteinkináz-C és foszfolipáz-C-függő reakcióutakon jön létre (Kirkby et al. 2008). A sebesség-meghatározó lépést a proendothelin ECE által katalizált endothelinné alakulása jelenti. Ez utóbbi döntő lépés az ET-1 manifesztációja szempontjából, ugyanis e peptid nem tárolódik a sejtekben, hanem azonnal kiválasztódik.

Az endothelinek hatásukat kétféle receptorhoz kapcsolódva fejtik ki. Mindkét receptor a G-fehérjéhez kapcsolt receptor szuperfamiliához tartozó, 45–50 kDa-os fehérje, melyet két külön gén kódol, amelyek a 4-es és 13-as kromoszómán helyezkednek el. Aminosav szekvenciájuk mintegy 60%-ban azonos (Motte et al. 2006). Az ETA receptor az ET-1-et és ET-2-t azonos affinitással köti, míg az ET-3-at mintegy 100-szor gyengébben, ugyanakkor az ETB receptor mindhárom ET molekulához azonos affinitással bír (Schneider et al. 2007).

Az ETA és ETB receptort egyaránt hordozó sejtek olyan reakciókat mutattak, amelyek a korábbi ismeretek alapján nem magyarázhatóak, ezért feltételezhető, hogy ezeken a sejteken a receptorok homo- és heterodimerjei is előfordulnak, ami működésük megváltozásához vezet (Gregan et al. 2004).

Az emberi szövetek legtöbbje rendelkezik endothelint kötő receptorokkal, de még azonos szövettípuson belül is megfigyelhető e receptorok lokális koncentrációja. Az emberi szíven például sokkal több ET receptort találunk a pitvari, mint a kamrai régióban.

Az endothelinek szerepe számos humán kórfolyamatban bizonyított, így tudományos szempontok mellett terápiás igény is felmerült gátlószerek kifejlesztésére. Az endothelin hatásának kiesését receptorainak blokkolásával érik el. Az ET receptorblokkolóknak két főbb csoportját különböztetik meg: a szelektív ETA illetve ETB

receptor antagonistákat és a nem szelektív, ETA és ETB receptorokat egyaránt blokkoló vegyületeket.

Az ET receptorokat kódoló gének ismerete lehetőséget nyújtott a géntechnológia felhasználása által különböző deléciós mutáns kísérleti állattörzsek létrehozására. Így létezik ETA és ETB receptor hiányos és ET-1 hiányos (heterozigóta, mivel a homozigóta genotípus letális) mutáns állat is. A velük végzett kísérletek tekintélyes mennyiségű információt szolgáltatnak az endothelinek működésének és hatásainak sokrétűségéről.

Az ET-1 féléletideje egészséges szervezetben meglehetősen rövid. A radioaktív jódhoz kapcsolt peptid mennyisége megközelítően 1 perc alatt felére csökken, míg a presszor hatás körülbelül egy órán át figyelhető meg (Dhaun et al. 2007).

Az ET-1 eltávolítása elsősorban a B-típusú ET receptoron keresztül megy végbe elsősorban a tüdőben. Az átáramló vérből egyetlen passzázs során az ET-1 molekulák mintegy felét távolítja el a tüdőszövet (Dupuis et al. 1996). Az ETB receptor a hozzá kötődött molekulával együtt internalizálódik, és a sejten belül degradálódik. Az ETB receptorok szelektív blokkolása a plazma ET-1 szintjének négyszeres emelkedését okozta (Bagnall et al. 2006, Ge et al. 2006). Az ET-1 szintjének csökkenéséhez enzimatis bomlás is hozzájárul. A molekula eltávolításában a tüdőn kívül fontos szerepe van a májnak és a vesének is (Kirkby et al. 2008).

Az ET-1 az intracellularis Ca^{2+} -ion koncentráció kétfázisú emelkedését okozza. A gyors, 2–5 másodperc alatt lezajló fázist egy lassú, mintegy 20 percig tartó növekedés követi. Ezek a gyors reakcióutak az ET-1 rövidtávú hatásait közvetítik, például a kontrakciót, relaxációt, szekréciót. Az ET-1 kötődése génátírási folyamatokat is kivált, melyek hosszú távú mitogén, hipertrófiás, és differenciációs folyamatokat indítanak el, melyeket feltehetően az ETA receptor közvetít (Motte et al. 2006, Schneider et al. 2007). Az erek simaizomsejtjein mind az ETA, mind az ETB receptor megtalálható. Ingerületük vasoconstrictor és sejtproliferációs hatást közvetít. Az ETB receptorok ezen felül megtalálhatók az endotheliumon is. Az endotheliális ETB receptorok ingerülete az előbbiekkal ellentétben a vazodilatator NO és ciklooxygenáz metabolitok termelésén keresztül az erek elernyedésében játszik szerepet (Kirkby et al. 2008, Motte et al. 2006, Schneider et al. 2007).

A fenti megállapításokat szelektív ETA és ETB receptor antagonistá vegyületekkel végzett kísérletek eredményei is alátámasztják, melyek szerint humán rezisz-

tenciaereken az ET-1 az erek simaizomsejtjeinek ETA receptorain keresztül vasoconstrictor hatást vált ki, melyet az NO-függő ETB receptor által mediált dilatator tónus módosít (Verhaar et al. 1998).

A következőkben az ET-1 legfontosabb, cardiovascularis rendszeren kifejtett hatásai kerülnek tárgyalásra.

Az ET-1 az endothel ETB receptorán hatva növeli annak NO kibocsátását, míg az NO gátló hatású az ET-1 termelésére. Az arány eltolódása az ET-1 mennyiségének növekedése és a NO csökkenése irányába szerepet játszhat különböző szív- és érrendszeri betegségek, többek között az atherosclerosis, és a pangásos szívelégtelenség kialakulásában (Brunner et al. 2006). Kísérletes körülmények között atherosclerosisban az ET receptorok blokkolása megelőzi az endothel diszfunkciót és az érrelváltozásokat (Moreau et al. 1997/b, Barton et al. 1998, Best et al. 1999).

Humán coronaria-keringésben az ET-1 netto vasoconstrictor hatást fejt ki.

Az ET-1 ezerszer hatékonyabb, mint az eddig ismert legerősebb vasoconstrictor, az angiotenzin II (AT II). Az ET-1 vérnyomásemelő hatása bifázisos: intravénás adagolását átmeneti depresszor szakasz, majd hosszan tartó, lassan kialakuló erős presszor fázis követi. Az ET-1 presszor hatása közvetlen vasoconstrictor aktivitásának, illetve az általa serkentett AT II generálásának és/vagy a központi idegrendszer aktiválódásán keresztül létrejött tónusfokozódásnak tulajdonítható. Kísérletes hipertóniában sokkal jobban megemelkedik az érfal ET-1 tartalma, mint az ET-1 plazmaszintje. Kísérletes hipertóniában a szelektív ETA receptor antagonistával történő kezelés mérsékli a bal kamra hipertrófiát (Ehmke et al. 1999), megelőzi az érfal hipertrófiáját (Moreau et al. 1997/b) és enyhíti az endothel diszfunkciót (Uscio et al. 1997, Moreau et al. 1997/a). A keringésben, illetve az érfal szövetében levő ET-1 szintje magasabb atherosclerosisban szenvedő betegek esetében és összefüggést mutat az érintett területek számával.

Az emberi szív izomsejtjei és a fibroblastok elsősorban ETA receptort tartalmaznak, míg ETB receptorok nagyobb számban találhatóak a konduktív szövetben (Molenaar et al. 1993).

A cardiovascularis rendszerben az ETA receptor főként myocardialis, sejtproliferatív és vasoconstrictor szereppel bír, míg az ETB receptor túlnyomórészt ellentétes hatásokat közvetít (indirekt vasodilatatio, antiproliferációs hatás a szív- és érrendszer szöveteire, natriuresis a vesében) (Brunner et al. 2006).

Az ET-1 hatása az ETA és ETB receptorok működésének soktényezős kölcsönhatása, melyet egyéb faktorok mellett befolyásol az endothel integritása és a receptortípusok elhelyezkedése.

Az ET-1 okozta vasoconstrictiót többféle mediátor is képes antagonizálni, pl. prosztaglandinok, adrenomedullin, ghrelin, C-típusú natriureticus peptid, melyek termelését az endothelialis ETB receptor aktiválása indítja el (Brunner et al. 2006).

Az ET-1 többirányú hatást gyakorol a szívre:

Pozitív inotrop hatással bír egészséges emberben, amelyet az ETA receptor közvetít. Kísérletes myocardialis ischaemia következtében felszabaduló ET-1 proarrhythmias hatású és súlyosbítja a reperfüziós arrhythmiait is (Brunner et al. 2006).

A Frank–Starling mechanizmusban (megnövekedett preload/végdiastolés nyomás hatására létrejövő kontraktilitás növekedés) az ET-1-nek fontos szerepe van. A preload növekedése azonnali és késői hatást is kivált. Egészséges szívben a gyors válasz háttérében, amely a Frank–Starling mechanizmus lényege is egyben, az izomsejtek Ca^{2+} -ion iránti érzékenységének növekedése áll. A lassú válaszban (az izomösszehúzódás mértékének, vagyis a kifejtett erőnek 10–15 perc alatt bekövetkező növekedésében) az ET-1 és a Ca^{2+} -ionok izomsejtbe való áramlása játszik fő szerepet összetett autokrin és parakrin mechanizmus eredményeként. Patkányokon végzett kísérlet tanúsága szerint hipertrófiás szívben az ET-1-nek alapvető szerepe van a megnövekedett preloadra adott azonnali válaszban is (Piuholá et al. 2003).

A fentiek szerint az ET-1 egészséges szívben a késői válaszban, míg hipertrófiás szívben a késői válasz mellett az azonnali alkalmazkodásban is nélkülözhetetlennek tűnik.

A szívben kétféle endothelsejt található. Az endocardialis endothelsejt a szív üregeit béleli, míg a microvascularis endothelsejt a szív ereinek belső felszínét adja. Mindkét típusú sejt kardioaktív anyagok termelése révén parakrin módon befolyásolja a szív teljesítményét. A szív endothelsejtjei által termelt ET-1 modulálja a szív kontraktilitását, melyet befolyásol az endothelium funkcionális integritása. Az ET-1-nek szerepe van a (pato)fiziológiás körülmények hatására létrejövő hipertrófiában is (Brunner et al. 2006).

Pangásos szívelégtelenségben szenvedő patkányok szívében jelentős mértékben megemelkedett (Sakai et al. 1995, Tonnessen és Christensen 1997), de perifériás keringésükben, különösen a tüdőben (Huntington és Picard 1998) szintén fokozott az

ET-1 termelés, aminek eredményeként kísérletes pangásos szívelégtelenségben megemelkedik az ET-1 plazmaszintje (Margulies és Hildebrand 1990) és a myocardialis ET-receptorok sűrűsége (Sakai és Mayauchi 1996). Pangásos szívelégtelenségben szenvedő betegek esetében az ET-1 plazmaszintjének emelkedése összefüggést mutat a kórkép haemodinamikai súlyosságával, illetve a tünetekkel (Cody et al. 1992, Pönicke et al. 1998, Rodeheffer és Lerman 1992, McMurray et al. 1992). Szívelégtelenségben szenvedő betegekben az ET-1 szöveti szintje is emelkedik, ezzel párhuzamosan az ETA receptorok száma is megnő, míg az ETB receptorok száma úgy tűnik, csökken. Összefüggés van az ET-1 plazmaszintje és a szív töltőnyomásai, illetve a pulmonaris hypertonia foka között. Kimutatták, hogy az alacsonyabb plazma ET-szintű betegek nagyobb hányada éli túl az akut myocardialis infarktust követő 360 napot, vagyis az ET-1 plazmaszintje meghatározza az akut myocardialis infarktusból szenvedő betegek elhalálzásának relatív kockázatát. Kísérleti körülmények között az ETA receptor antagonistákkal történő kezelés csökkenti az infarktus kiterjedését és javítja a túlélést. Az ET-1 erős vasoconstrictor potenciáljának ismeretében a koszorúerekre gyakorolt effektus központi tényezője lehet a molekula ischaemia és/vagy reperfüzió talaján kifejlődő arrhythmogen hatásának. Az intracoronariás bolusban adott ET-1 myocardialis ischaemiát és ezen keresztül súlyos kamrai tachyarrhythmiaokat okozó hatása régóta ismert (Haynes és Webb 1998). Később olyan experimentális adatok is napvilágra kerültek, amelyek azt sugallják, hogy az ET-1 rendelkezik egy myocardialis ischaemiától függetlenül kifejlődő primer arrhythmogen hatással is. Az ET-1 erős és hosszan tartó vasoconstrictor hatása mellett specifikus szívizom receptorokon hatva pozitív inotrop és pozitív chronotrop hatással is rendelkezik. Ugyanakkor egyes irodalmi adatok az ET-1 negatív chronotrop hatására utalnak: 0,67 nmol/kg ET-1 adására patkányban átmeneti tachycardia után bradycardia és AV-blokk keletkezett (Drimal et al. 2003).

Az ET-1 szerepet játszhat a cardiovascularis betegségek kialakulásában az alábbiak alapján:

- az ET-1 termelése és receptorális hatásai egyes szívbetegségekben megváltoznak,
- ET-1 adására a betegség tünetei kiválthatók,
- az ET-1 aktivitását csökkentő anyagok a betegség tüneteit is mérséklék.

A fentiek alapján az ET-1 szerepe számos cardiovascularis betegségben igazolható akár az erek tónusának krónikus fokozódása miatt (hypertensio, ischaemiás szívbetegség, pangásos szívelégtelenség), akár akut tónusnövekedés folyamányaként (pl. cerebralis vasospasmus subarachnoidalis vérzést követően). Az ET-1 proinflammatorikus és profibrotikus hatásai szintén hozzájárulhatnak a szív- és érrendszeri betegségek (pl. atherosclerosis) kialakulásához.

4.8. Natriureticus anyagok

1981-ben de Bold és munkatársai pitvari szívizomból vett mintákban felfedeztek egy anyagot, az atrialis natriureticus peptidet (ANP), amely natriuresist és vasodilatációt okozott (de Bold et al. 1981, de Bold 1982, de Bold 1985). Két évvel később tisztították és szekvenálták a molekulát (Flynn et al. 1983). Nem sokkal később felfedezték a B- (BNP) és C-típusú natriureticus peptidet (CNP). A BNP képződésének elsődleges helye a szív kamrai izomzata, bár először sertés agyban izolálták (Sudoh et al. 1988). A CNP-t először az idegrendszerben mutatták ki, de később kiderült, hogy az endothelsejtekben termelődik (Suga et al. 1992).

Az ANP prekursor molekulája a proANP. Ebből hasítással keletkezik az N-terminális fragmentum (NT-ANP) és a biológiailag aktív hormon, az ANP. Az előbbiekből következően az ANP és NT-ANP ekvimoláris mennyiségben képződik.

Az ANP elválasztásának legfőbb szignálja a pitvari falfeszülés, illetve a pitvar tágulása volumen expanzió hatására. Egyértelműen az ANP szekréciójára ható trophormont nem ismerünk, de több anyagról is kimutatták, hogy serkentik az ANP elválasztását. Ezek közül az AT II, az ET és a katecholaminok élettani szerepe is valószínűsíthető.

Az endothelium és endocardium eredetű nitrogén-monoxid gátlóan hathat az ANP elválasztására. Az ANP hatásait membránhoz kapcsolt receptorokon fejti ki. Három natriureticus peptid receptort azonosítottak. Az NPRA és NPRB receptorok közvetítik a hormon biológiai hatásait. Az ANP célpontjai a vese és a vascularis simaizom. A peptid az NPRA-n keresztül vérnyomáscsökkenést okoz direkt vasodilatatio által, valamint növeli a só- és vízkiválasztást, fokozza a kapilláris-permeabilitást, és gátolja számos hormon hatását vagy elválasztását, ilyenek például az aldosteron, az AT II,

az endothelin, a renin és a vazopresszin (Ruskoaho et al. 1997). A natriureticus hatás a vese gyűjtőcsatornáiban történő sóvisszavétel direkt gátlásán, a glomeruláris filtráció fokozásán, valamint az aldosterontermelés és szekréció gátlásán keresztül valósul meg, így az ANP a renin-angiotenzin rendszerrel ellentétes hatásokat hoz létre.

Az ANP féléletideje emberben 2–5 perc, a metabolikus clearance-e pedig 14–25 ml/perc/kg (Pang et al. 1991). Az ANP eliminációja egyrészt az NPRC-on keresztül, másrészt enzimátikus úton egy neutrális endopeptidáz közreműködésével történik. A neutrális endopeptidáz megtalálható a glomerulusban, a vese simaizomsejtjeiben, valamint magas koncentrációban a proximális tubulus sejtjeinek kefeszegélyében (Smith et al. 2000). Kimutatható a vascularis szövetekben és az erek simaizomsejtjeiben is. Kísérletek igazolták, hogy ezen enzimnek a gátlása fokozza az endogén ANP-szintet.

Ugyan az NT-ANP az ANP-vel ekvimoláris mennyiségben szekretálódik, plazmaszintje az ANP-hez képest mégis magasabb, ami valószínűleg hosszabb féléletidejének köszönhető (Doubell és Thibault 1994). Ezt tükrözi az is, hogy a pangásos szívelégtelenségben és krónikus veseelégtelenségben szenvedőkben bekövetkező NT-ANP-szint emelkedés (15–20-szoros) jóval meghaladja az ANP szintjében bekövetkező változásokat (4–5-szörös) (Smith et al. 2000). A keringő NT-ANP szintjének emelkedettsége tünetmentes bal kamra diszfunkciót jelezhet pangásos szívelégtelenségben (Lerman et al. 1993, Kettunen et al. 1994, Ruskoaho 2003).

Az NT-ANP eliminálását a vese végzi. Az NT-ANP-nek biológiai hatásait nem sikerült kimutatni, talán a specifikus receptor hiánya miatt.

5. Célkitűzés

5.1. Orális antidiabetikumok kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában

Kutyákban kialakult és igazolt cukorbetegségben egyeduralkodó kezelés a parenterálisan alkalmazott inzulin. Embereknél többféle, az inzulintól eltérő hatású és támadáspontú, különböző kémiai és biológiai sajátosságú gyógyszerkészítményt is alkalmaznak. A gyógyszerek használata, kombinációja függ a páciens cukorbetegségének típusától és a gyógyszerre adott választól, vagyis a szer hatásosságától. A gyógyszerválasztást ezen kívül befolyásolják egyéb tényezők is, például a cukorbeteg egyénben nem ritkán fellelhető társbetegségek is.

A cukorbetegség kezelésének, gyógyszeralkalmazási szempontjainak kiterjedt humán vonatkozású irodalma van. Ugyanakkor a társállatoknál, nevezetesen a kutya és a macska esetében jóval szerényebb a fellelhető irodalom.

Macskákban elismert hatékonyságú és a gyakorlatban is alkalmazott szer a szulfanilurea vegyületek közé tartozó glipizid.

Kutyákban az orális antidiabetikumokat nem alkalmazzák a gyakorlatban. Hatásosságukkal kapcsolatban kevés a fellelhető adat, átfogó vizsgálat pedig nem található a szakirodalomban.

A szájon át szedhető antidiabetikus szerek hatásmódjuk alapján három fő csoportba sorolhatók. Az első csoport tagjai mérséklik a szénhidrátok felszívódását. A következő csoportba tartozó szerek fokozzák az inzulin hatását a szövetekben. A harmadik csoport vegyületei a hasnyálmirigy inzulinelválasztását serkentik.

Orális antidiabetikumokkal folytatott kísérletünk célja az volt, hogy a humán medicinában 2-es típusú diabetesben leggyakrabban használt hatástani csoportok egy-egy képviselőjének hatásosságát megvizsgáljuk kutyák alloxan diabetesében.

5.2. Endothelin- és natriureticus peptidszint szívhipertrófiában kísérletes diabetes mellitusban kutyában

A diabetes mellitus következtében kialakult kóros anyagcsere állapothoz gyakran társulnak különféle, többek között a cardiovascularis rendszert érintő elváltozások, például endothelialis diszfunkció, szövetproliferáció, atherosclerosis, a szív endokrin aktivitásának megváltozása.

A cukorbetegség és a cardiovascularis rendszert érintő megbetegedések kapcsolatának fontosságára utal, hogy statisztikai adatok alapján a diabetes mellitusban szenvedő emberek körében a szív- és érrendszert érintő betegségek a vezető halálteki tényezők. A diabeteshez társuló cardiovascularis megbetegedésekben több kóros tényező is szerepel. Ezek egyike az újabban kiterjedten tanulmányozott endothelin molekula.

Számos adat igazolja, hogy az endothelin több ponton is befolyásolja a szív működését. Modulálja a Frank–Starling mechanizmust, vasoconstrictor hatást fejt ki a coronaria ereken, pozitív inotrop hatást gyakorol a szívre és serkenti a szövetproliferációt. Szerepe lehet a natriureticus peptid termelésének szabályozásában is.

Sok közlemény foglalkozik az endothelin hatásaival alapállapotban, nem kevésbé fontos azonban, hogy hogyan reagál az eleve metabolikus betegséggel sújtott szív, amelyre akut haemodinamikai terhelés is hárul.

Kísérletünk célja az endothelin-1 és a szív terhelésének markereként jellemezhető natriureticus peptid, valamint a natriureticus peptid N-terminális fragmentje (NT-ANP) szintjének változását, a köztük fellelhető esetleges összefüggéseket meghatározni akut haemodinamikai terhelés hatására kutya modellen kísérletes diabetesben.

5.3. Endothelin által kiváltott kamrai arrhythmia vizsgálata kísérletes diabetes mellitusban kutyában

Az endothelin-1 egyéb hatásai mellett képes arrhythmia kiváltására is. A szívritmuszavar megjelenése lehet indirekt, vagy direkt hatás következménye.

Az ET-1 vasoconstrictiót okoz, amely myocardialis ischaemiát eredményezhet. A szívizom helyi vérellátási hiányossága ritmuszavart válthat ki, amely – bár nem az ET-1 közvetlen hatása –, mégis erre vezethető vissza.

Az ET-1-nek emellett direkt arrhythmogen hatást is tulajdonítanak, amely a szív-izomsejtek elektromos aktivitásának és metabolizmusának befolyásolásán keresztül jön létre.

A diabeteshez gyakran társuló cardiovascularis komplikációk közé tartozik a szív fokozott érzékenysége az arrhythmogen hatásokra.

Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy alacsony dózisú intracoronariás ET-1 infúzió arrhythmogen hatására a diabeteses szív reakciója eltér-e és mennyiben az egészséges szívétől.

6. Oralis antidiabetikumok kutyák alloxannal kiváltott diabetes mellitusában

6.1. Anyag és módszer

A kísérlethez 17 középtermetű, 25 ± 5 kg testsúlyú, mesterségesen kiváltott cukorbetegségben szenvedő keverék kan és szuka kutyát használtunk. Az állatokat egyedi ketrecekben helyeztük el, 12 órán át mesterséges megvilágításban és 12 órán át váltakozva sötétben tartottuk, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os átlaghőmérsékleten. Naponta kétszer (7.00 és 15.00 órákor) etettünk. Az eleség teljesértékű kutyatáp volt, amely gabonaféléket, húst és állati származékokat, növényi fehérjekivonatokat, olajokat, zsírokat, ásványi anyagokat, zöldségeket és vitaminokat tartalmazott (25% nyersfehérje, 13% nyers olajok és zsírok, 7% nyershamu, 2,5% nyersrost). Az eleség napi adagja 310–440 g volt két részre elosztva. Vizet ad libitum kaptak az állatok.

A kísérleti protokollokat jóváhagyta az Állatvédelmi Tanácsadó Testület Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanácsa.

A diabeteses modellben a cukorbetegséget $560\text{ }\mu\text{mol/ttkg}$ alloxan (Sigma–Aldrich; St. Louis, USA) egyszeri intravénás adagolásával váltottuk ki. A vércukor értékeket 7 nappal az alloxan-kezelés után vizsgáltuk. 7-pontos cukorterheléses vizsgálatot is végeztünk 6 mmol/ttkg intravénás bolusban beadott glükózzal a diabeteses állapot igazolására. A kísérletbe választott állatok vércukor értéke az alloxan-kezelés utáni 7. napon mérsékelten emelkedett ($6,5\text{--}8,3\text{ mmol/l}$) volt.

A 8–15. napon a kutyák még nem kaptak kezelést. A vércukor értékeket naponta kétszer mértük. Az első mérés közvetlenül a reggeli etetés előtt történt (éhhomi vércukorszint, ÉVC), a második mérés az etetés utáni (postprandialis) vércukor értéket (PPVC) adta 60 perccel később.

Az ebben a periódusban naponta mért éhhomi és postprandialis vércukor adatok szolgáltatták a kontroll vércukor értékeket. A következő öt hét folyamán – a kísérlet 16–50. napján – az állatokat a vizsgált szerekkel kezeltük az alább részletezett módon.

A kísérlet 16. napján a kutyákat random módon három csoportba osztottuk. Az első csoportnak, amely hat kutyából állt, napi 200 mg acarbose (Glucobay – Bayer; Leverkusen, Germany) ($9,1 \pm 0,8\text{ mg/ttkg}$) adagoltunk.

A második, öt kutyából álló csoport egyedeit napi 1700 mg metforminnal (Meformal – Berlin–Chemie; Berlin, Germany) ($60,9 \pm 6,4$ mg/ttkg) kezeltük.

A harmadik, hat kutyából álló csoport naponta 160 mg gliclazidot (Diaprel – Servier; Gidy, France) ($6,1 \pm 0,7$ mg/ttkg) kapott.

A napi gyógyszeradagot két egyenlő részre osztva az etetésekkel egyidőben adagoltuk. Az ÉVC és PPVC értékeket továbbra is naponta meghatároztuk. A vérképet és a következő biokémiai paramétereket: ALT, ALP, amiláz, lipáz, triglicerid (TG) és összkoleszterin (TC) megvizsgáltuk a kísérlet kezdetén, majd annak időtartama alatt hetente. A kísérlet indításakor az állatok minden vizsgált értéke normális volt.

A vérkép meghatározásához EDTA tartalmú mintavételi csöveket, míg a biokémiai adatok és az inzulin méréséhez heparinos csöveket használtunk. A biokémiai adatokat 24 órán belül meghatároztuk.

Az inzulint hetente mértük a gliclazid-csoport kivételével, ahol minden harmadik napon vettünk mintát. A gliclazid az inzulinválasztást serkentő szerek közé tartozik. Ebben a csoportban a gyakoribb mintavétellel követni kívántuk az inzulinválasztásban bekövetkezett esetleges változásokat. A mintákat lecentrifugáltuk (3500 rpm 5 min.), a plazmát szeparáltuk és feldolgozásig -20 C° -on tároltuk.

Az ALT-t Roche IFCC Hitachi ALT reagenssel (Basel, Switzerland) mértük, míg a többi biokémiai adatot a Diagnosticum Rt (Budapest, Hungary) reagenseivel.

A vércukrot enzimatikus, kolorimetriás módszerrel határoztuk meg D Cont Personal glukotesterrel (Lilly; Indianapolis, USA), (hibahatár max. $\pm 1\%$).

A vérképet Baker 7000 Haematológiai automatával (Baker Instruments; New York, USA) vizsgáltuk.

Az inzulin méréséhez BI-Insulin IRMA (Cis bio International, Shering; Wien, Austria) kitért alkalmaztunk.

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

6.2. Eredmények

A kutyák viselkedése normális, fajnak megfelelő maradt. Néhány esetben fáradékonyság, polydipsia, polyuria megfigyelhető volt. A kezelés harmadik hetétől előfordult néhány állatnál hányás, hasmenés. A kezelés folyamán az éhhomi és postprandialis vércukorszintek az acarbose és a metformin csoportban normális–enyhén emelkedett tartományban (4,0–8,5 mmol/l) voltak, míg a gliclaziddal kezelt kutyákból háromnál esetenként kifejezetten magas vércukor értékeket is mértünk (akár 22,4 mmol/l-t).

Acarbose kezelés esetén az átlagos csökkenés (MD) $0,49 \pm 0,58$ mmol/l ($P = 0,09$) (1. táblázat, 2. ábra), metforminnál $1,28 \pm 0,69$ mmol/l ($P = 0,01$) (2. táblázat, 3. ábra) és gliclazid esetén $0,08 \pm 1,33$ mmol/l ($P = 0,88$) (3. táblázat, 4. ábra) volt.

A statisztikai értékelés alapján a három vizsgált szer közül a metformin volt az egyetlen, amely szignifikáns vércukorszint csökkenést okozott.

A kísérleti állatok vérképe nem mutatott eltérést a kísérlet időtartama alatt, a metformin csoportban két állatnál megfigyelt átmeneti eosinophiliától eltekintve, mely elérte a 20%-os arányt a minőségi vérképben [referencia tartomány: 1–6% (Gaál 1999)]. Ez a változás feltehetően nem volt kapcsolatban a kezeléssel.

A vérplazma ALT, ALP, amiláz, lipáz, összkoleszterin és trigliceridszintjét szintén monitorizáltuk.

Az acarbose csoportban 5 kutyánál észleltünk enyhén emelkedett ALP szintet (180–393 U/L) [referencia tartomány: 30–140 U/L (Gaál 1999)], ezek közül három állatnál az amiláz enzim aktivitása is emelkedett volt (1092–1387 U/L) [referencia tartomány: 900 U/L alatt (Gaál 1999)] az egész kísérlet időtartama alatt.

A metformin csoportban az egyik kutya magasabb ALT és ALP értékeket mutatott a kísérlet kezdetén (458 U/l és 947 U/l) amelyek fokozatosan rendeződtek és a kezelési időszak végére normalizálódtak. Az amiláz enzim aktivitása általában nőtt a kezelés folyamán, de a kísérlet befejezésekor sem lépte túl a normális értéket.

A gliclazid csoportban két kutyánál magasabb ALT szint volt megfigyelhető (144 és 991 U/L) a kísérlet elején [referencia tartomány: 40 U/L alatt (Gaál 1999)], amely fokozatosan normalizálódott, míg a hat kutyából ötben az alkalikus foszfatáz értéke magas maradt (266–1640 U/L).

A kezdeti magasabb amiláz, ALT, és ALP szintet feltehetően a májra fokozott terhelést jelentő alloxán kezelés idézte elő.

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

Az inzulin értékek az acarbose csoportban két kutyánál végig a referencia tartományban (36–144 pmol/l) (Kaneko et al. 1997) maradtak, a többi négy állatnál több alkalommal is ennél alacsonyabb értéket kaptunk (4. táblázat). A metformin csoportban 1-1 esetben csekély mértékben az alsó határérték alatti inzulinszintet mértünk, az esetek túlnyomó részében azonban normál értékek adódtak (5. táblázat). A gliclaziddal kezelt kutyák közül két állatnál a kísérlet folyamán szinte végig határérték alatt maradt az inzulinszint és egy kutya kivételével a többi állatnál is többször mértünk alacsony inzulin értéket (6. táblázat). Az eltérésekkel kapcsolatosan nem volt összefüggés megfigyelhető sem a kísérlet idejével, sem a mintavétel időpontjával, vagy az állatok általános állapotával.

Az adatokat Shapiro–Wilk normalitás teszttel ellenőriztük, mely szerint $P = 0,62$ acarbose-ra, $P = 0,65$ metforminra és $P = 0,83$ gliclazidra.

1. táblázat. Átlagos éhhomei és postprandialis vércukorszintek az acarbose-zal kezelt csoportban.

Dózis 0: kontroll periódus, ekkor a kutyák még nem kaptak acarbose-t

Dózis 200: 200 mg acarbose/kutya/nap

ÉVC: éhhomei vércukorszint (mmol/l)

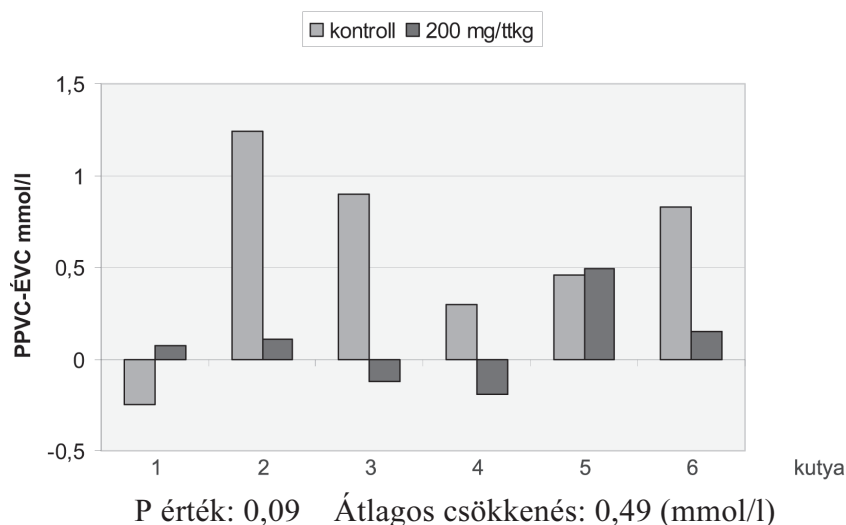
PPVC: postprandialis vércukorszint (mmol/l)

VCK: vércukorszint különbség (mmol/l) (PPVC–ÉVC),

KK: kezelési különbség (mmol/l) (VCK kezelt–VCK kontroll)

Kutya	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	KK	
1	0	4,33±0,24	4,08±0,57	-0,25±0,73	200	4,66±0,33	4,73±0,52	0,07±0,39	0,32	
2	0	6,06±0,13	7,30±0,60	1,24±0,68	200	5,68±0,46	5,79±0,66	0,11±0,51	-1,13	
3	0	5,68±0,13	6,58±0,70	0,90±0,68	200	5,80±0,25	5,68±0,54	-0,12±0,59	-1,02	
4	0	4,94±0,42	5,24±0,47	0,30±0,24	200	5,40±0,49	5,21±0,35	-0,19±0,49	-0,49	
5	0	4,56±0,32	5,01±0,29	0,46±0,49	200	4,94±0,62	5,43±0,43	0,49±0,69	0,03	
6	0	4,30±0,57	5,13±0,10	0,83±0,53	200	4,55±0,59	4,70±0,49	0,15±0,47	-0,69	
									átlag	-0,49
									SD	0,58

* (mg/kutya/nap)



2. ábra. Átlagos vércukorszint különbségek (PPVC–ÉVC) 200 mg acarbose-zal történt kezelés előtt és után.

A vércukor értékek az 1-es kutya kivételével emelkedtek az etetés után kezelés nélkül (világos oszlopok) míg acarbose adása mellett az etetés előtti és utáni vércukor értékek különbsége csekélyebb volt (sötét oszlopok), sőt a 3-as és 4-es kutyánál negatív érték adódott, mivel az etetés után mért vércukor értékek átlagosan alacsonyabbak voltak az etetés előttinél acarbose adása mellett. Az átlagos vércukorszint csökkenés (0,49 mmol/l) azonban nem bizonyult szignifikánsnak.

2. táblázat. Átlagos éhhomei és postprandialis vércukorszintek a metforminnal kezelt csoportban.

Dózis 0: kontroll periódus, ekkor a kutyák még nem kaptak metformint

Dózis 1700: 1700 mg metformin/kutya/nap

ÉVC: éhhomei vércukorszint (mmol/l)

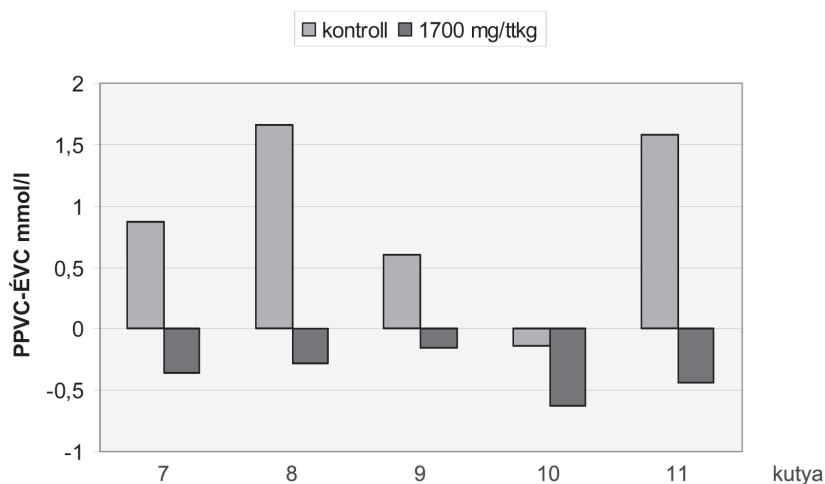
PPVC: postprandialis vércukorszint (mmol/l)

VCK: vércukorszint különbség (mmol/l) (PPBG–FBG),

KK: kezelési különbség (mmol/l) (VCK kezelt–VCK kontroll)

Kutya	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	KK
7	0	6,60±0,56	7,46±0,91	0,86±0,71	1700	6,51±0,78	6,15±1,40	-0,37±1,20	-1,23
8	0	5,50±1,37	7,15±0,75	1,65±1,21	1700	6,41±1,04	6,13±1,61	-0,29±1,17	-1,94
9	0	5,55±0,99	6,15±1,03	0,60±0,50	1700	6,51±0,84	6,35±0,81	-0,16±0,74	-0,76
10	0	5,60±0,93	5,45±1,66	-0,15±0,99	1700	5,50±1,11	4,88±1,13	-0,63±0,44	-0,48
11	0	5,63±0,46	7,20±1,57	1,58±1,54	1700	6,49±0,83	6,04±0,76	-0,45±1,03	-2,03
								átlag	-1,28
								SD	0,69

* (mg/kutya/nap)



P érték: 0,01 Átlagos csökkenés: 1,28 (mmol/l)

3. ábra. Átlagos vércukorszint különbségek (PPVC–ÉVC) 1700 mg metforminnal történt kezelés előtt és után.

Metformin adása mellett (sötét oszlopok) az etetés utáni vércukorszintek átlagosan alacsonyabbnak adódtak az etetés előtti vércukor értékeknél. Az átlagos csökkenés (a kezeletlen és a kezelt periódus vércukorszint változásainak eltérése) 1,28 mmol/l statisztikusan szignifikáns. A világos oszlopok a kezelés nélküli időszak vércukor értékeinek különbségét mutatják.

3. táblázat. Átlagos éhhomei és postprandialis vércukorszintek a gliclaziddal kezelt csoportban.

Dózis 0: kontroll periódus, ekkor a kutyák még nem kaptak gliclazidot

Dózis 160: 160 mg gliclazid/kutya/nap

ÉVC: éhhomei vércukorszint (mmol/l)

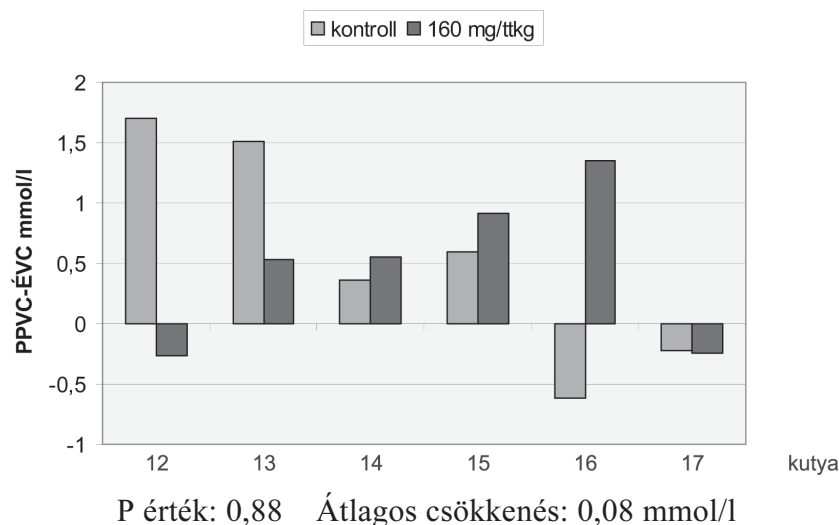
PPVC: postprandialis vércukorszint (mmol/l)

VCK: vércukorszint különbség (mmol/l) (PPVC–ÉVC),

KK: kezelési különbség (mmol/l) (VCK kezelt–VCK kontroll)

Kutya	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	Dózis*	ÉVC	PPVC	VCK	KK	
12	0	4,86±1,20	6,56±1,29	1,70±0,64	160	5,73±2,21	5,47±1,74	-0,27±1,35	-1,97	
13	0	4,39±0,80	5,90±0,65	1,51±1,06	160	4,57±1,48	5,10±1,39	0,53±0,85	-0,98	
14	0	7,86±1,55	8,22±1,24	0,36±0,67	160	9,02±5,00	9,56±4,57	0,55±1,42	0,19	
15	0	8,03±0,97	8,63±1,17	0,60±1,31	160	15,02±3,88	15,93±3,95	0,92±1,43	0,32	
16	0	10,48±0,72	9,86±1,01	-0,62±0,40	160	13,5±3,40	14,85±3,42	1,35±2,44	1,97	
17	0	7,36±0,56	7,14±0,69	-0,22±0,51	160	9,23±2,06	8,99±2,16	-0,24±0,30	-0,02	
									átlag	-0,08
									SD	1,33

* (mg/kutya/nap)



4. ábra. Átlagos vércukorszint különbségek (PPVC–ÉVC) 160 mg gliclaziddal történt kezelés előtt és után.

A gliclazid kezelés nem bizonyult hatásosnak a vércukorszint csökkentésében. Három kutyában (14, 15 és 16-os számú állatok) kezelés mellett az etetés utáni vércukor értékek jobban emelkedtek az etetés előttihez képest, mint kezelés nélkül.

A szürke oszlopok a kezelés nélküli periódus vércukor értékeinek különbségeit jelzik, míg a sötét oszlopok a kezelés mellett kapott értékeket demonstrálják.

4. táblázat. *Inzulin értékek (pmol/l) az acarbose-zal kezelt kutyákban a kezelés időtartama alatt.*

Kutya	7. nap	14. nap	21. nap	28. nap	35. nap
1	28,50	17,38	16,66	40,06	38,48
2	39,71	52,99	46,10	57,22	84,87
3	35,61	41,86	32,96	49,25	33,75
4	45,09	80,20	42,65	58,59	93,56
5	53,99	34,11	22,62	65,55	63,11
6	52,63	31,81	32,53	75,53	57,30

5. táblázat. *Inzulin értékek (pmol/l) a metforminnal kezelt kutyákban a kezelés időtartama alatt.*

Kutya	7. nap	14. nap	21. nap	28. nap	35. nap
7	72,09	66,92	85,80	96,50	77,83
8	65,63	53,63	100,81	62,90	64,84
9	54,28	54,64	38,63	43,87	34,46
10	46,31	41,64	39,78	55,93	57,37
11	59,16	41,64	34,82	49,61	36,62

6. táblázat. *Inzulin értékek (pmol/l) a gliclaziddal kezelt kutyákban a kezelés időtartama alatt.*

Kutya	3. nap	6. nap	9. nap	12. nap	15. nap	18. nap	21. nap	24. nap	27. nap	30. nap	33. nap
12	22,69	29,15	39,99	33,53	36,62	23,26	46,81	40,78	38,92	24,05	26,06
13	61,17	65,05	52,13	51,91	97,15	70,79	89,03	99,01	44,01	74,96	85,23
14	18,96	22,19	15,29	30,30	19,39	22,47	22,11	23,41	20,61	25,20	22,47
15	28,36	12,49	21,90	35,76	28,79	36,55	22,19	26,42	23,69	31,45	45,95
16	47,89	45,59	43,51	57,66	35,54	60,53	39,92	37,91	18,09	30,87	28,58
17	48,82	44,16	54,21	58,59	19,39	15,51	40,42	67,85	56,51	47,89	36,12

6.3. Megbeszélés

Az acarbose, metformin és a gliclazidot a humán medicina kiterjedten használja 2-es típusú diabeteses betegek kezelésében külön és kombinációban egyaránt.

Az állatorvosi gyakorlatban az orális antidiabetikumokat esetenként sikerrel alkalmazzák diabeteses macskákban, azonban kutyákban való alkalmazhatóságukkal kapcsolatosan alig érhető el irodalmi adat.

Ahogy a diabetes különböző típusainak kórélettani háttere eltér, úgy az egyes típusokban alkalmazandó adekvát kezelés is eltérhet.

Míg 1-es típusú diabetesben inzulin adása szükséges, addig a 2-es típus korai szakasza nem inzulindependens, bár a folyamat előrehaladtával a hasnyálmirigy béta-sejtjei pusztulnak, és kialakul az inzulindependencia. Az esetek többségében a betegséget túl későn ismerik fel, amikor az inzulinfüggőség már kialakult.

Elsősorban kutyák másodlagos diabetesében az inzulinon kívül egyéb kezelésnek is létjogosultsága lehet. Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a humán gyógyászatban rutinszerűen alkalmazott szerek váltanak-e ki vércukorszint csökkentő hatást kutyák kísérletes diabetesében. A cukorbetegséget a hasnyálmirigy béta-sejtjeit pusztító alloxánnal idéztük elő. Az alloxan az alkalmazott dózistól függő mértékű pusztulást okoz a béta-sejtekben (Cooperstein és Watkins 1981). Esetünkben az alkalmazott dózis mellett maradt némi béta-sejt aktivitás, amit a kísérletben felhasznált kutyák kiválasztásánál is szempontnak tekintettünk. Olyan állatokat válogattunk a kísérletbe, melyek éhomi vércukorszintje mérsékelten emelkedett (6,5–8,3 mmol/l) volt. Az alkalmazott protokoll szerint előidézett diabetes, és a kísérleti állatok következetes kiválogatása is azt szolgálta, hogy a modell minél jobban megközelítse a 2-es típusú cukorbetegségnek megfelelő állapotot.

Kísérletünkben a három vizsgált anyag közül az *acarbose* nem okozott statisztikusan szignifikáns étetés utáni (postprandialis) vércukorszint csökkenést a kontrollhoz képest. Ez a szer csökkenti a szénhidrátok emésztését és felszívódását, aminek eredményeképp kisebb mennyiségű glükóz kerül a keringésbe, és ezzel együtt a béta-sejtekhez is (Coniff et al. 1995).

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

Az acarbose hatását befolyásolja az eleség összetétele is, magasabb szénhidrát-tartalmú eleség mellett jelentősebb hatást képes kifejteni. Az acarbose nem csökkenti a máj glükóztermelését és nem befolyásolja a diabeteses beteg kórfolyamatait. Az acarbose emberben kevésbé hatékony az éhhomi vércukorszint csökkentésében, mint az inzulin, vagy a másik két vizsgált szer. Ugyanakkor ez a szer is hatékonyan csökkenti a táplálkozás utáni vércukorszintet (Gerard et al. 1981, Dimitriadis et al. 1985, Rios 1994), a vér glikált haemoglobin tartalmát (Jenney et al. 1993, Coniff et al. 1995) és a napi inzulinszükségletet (Balfour és McTavish 1993, Rios 1994). Általában kezdeti terápiaként, vagy egyéb szer mellett alkalmazzák elhízott páciensekben.

Egészséges kutyákban az inzulinelválasztás szignifikánsan csökkent 100 mg acarbose beadását követően 6 órán át (Robertson et al. 1999).

Kísérletünkben mértük a vércukorszintet egyszer etetés előtt, majd ismételt etetés után 60 perccel, mi azonban nem tapasztaltunk következetes változást.

Az acarbose hatása lassabban alakul ki, köszönhető ez feltehetően annak, hogy a vékonybél kefeszegély-enzimeinek bizonyos hányadát előbb blokkolnia kell (Robertson et al. 1999).

Emberekben acarbose alkalmazása mellett a vér májenzim értékei megemelkedhetnek, amely a szer elhagyása után normalizálódik (Cowan és Bunch 2001).

Kísérletünkben is megfigyeltünk átmeneti ALT emelkedést, emellett a lipáz szintje is megnőtt, amely tulajdonítható az acarbose-nak, ugyanakkor az alloxán kezelésnek is szerepe lehet benne.

Az acarbose a glükózmetabolizáció kezdeti lépéseinél hat, csökkenti a glükóz felszívódását a gyomor-bél csatornából. Nem befolyásolja azonban sem az inzulinelválasztást, sem a sejtek glükóz felvételét. A tápcsatornából nem szívódik fel.

A fentiek alapján érdemes volna az acarbose-t inzulinnal és metforminnal kombinációban is vizsgálni elhízott kutyákban, mivel ennek a szernek a támadáspontja eltérő az előbbiekéétől.

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

A metformin hatásmechanizmusa nem tisztázott részleteiben, ismert azonban, hogy a glükózmetabolizmust több ponton is befolyásolja. Gátolja a májban folyó glükoneogenezist, amely az éhhomi vércukorszint csökkenését eredményezi (Baily és Turner 1996, DeFronzo 1999).

Méréseink szerint az éhhomi vércukor értékek nem változtak (4,0–8,5 mmol/l) a kísérlet 4–5 hetes időtartama alatt, azonban kezdetben sem voltak kiugróan magasak. További vizsgálatot kíván annak eldöntése, hogy az éhhomi vércukor értékek relatív állandósága annak tulajdonítható-e, hogy a metformin nem befolyásolja a májban történő glükoneogenezist kutyában, vagy a szer kompenzálja a béta-sejtek folyamatos pusztulását. Megjegyzendő azonban, hogy az inzulintermelés nem mutatott jelentékeny változást a kísérlet folyamán.

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

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

A fentieknek megfelelően a metformint a cukorbetegség bizonyos típusaiban lehet alkalmazni, elsősorban másodlagosan kialakult diabetesben amikor még van inzulintermelés. Például ősztrusz diabetes esetén, vagy elhízott kutyákban, amelyek glükóztoleranciája csökkent. Ilyenkor is szükséges azonban az adekvát kezelés (ivartalanítás, vagy étrendváltás, súlycsökkentés), amely szerencsés esetben visszaállítja a normális anyagcsereállapotot.

A szintén az inzulinérzékenyítő szerek csoportjába tartozó troglitazont is érdemes volna hasonló modellben vizsgálni, mivel ennek a szernek a hatásmechanizmusa eltér a metforminétól. A troglitazon támogatja az anabolikus folyamatokat (növeli a lipogenezist és a mitokondriumok számát, ugyanakkor csökkenti az aerob respirációt és az alap lipolízist). A metformin viszont a katabolikus folyamatokat támogatja (növeli az aerob respirációt, a bazális zsírbontást és a zsírsavoxidációt) (Lenhard et al. 1997).

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

Kísérletünkben a hat kutyából háromnál az éhhomi vércukorszintek folyamatosan emelkedtek és kifejezetten magas értékeket értek el (max. 22,4 mmol/l) a kezelés harmadik hete után. Található ugyan irodalmi adat egy másik szulfanilurea vegyülettel, a glipiziddel kapcsolatosan arról, hogy a szerre adott válasz valószínűsége fordítottan arányos a kezelés kezdetén megfigyelhető vércukor érték emelkedéssel (Turner et al. 1999), kísérletünk során azonban a hyperglykaemia egyre súlyosabb mértékű volt, ami inkább egy patológiás állapot folyamatos progrediálásának tulajdonítható.

Az ALP értékben megfigyelt növekedés a szer farmakokinetikájával hozható összefüggésbe, mivel a gliclazid a vese mellett a májon keresztül választódik ki. A májenzim értékekben megfigyelhető emelkedés emberekben általában normalizálódik a szer szedésének időleges szüneteltetésével.

Összefoglalásként elmondható, hogy a metformint érdemes lenne tovább tanulmányozni kutyákban. Fontos lenne meghatározni milyen típusú diabetesben és milyen dózisban, esetleg milyen kombinációban lehetne alkalmazni.

7. Endothelin- és natriureticus peptidszint szívhipertrófiában kísérletes diabetes mellitusban kutyában

7.1. Anyag és módszer

A kísérletben 41 egészséges és diabeteses kutyát használtunk. A cukorbetegséget 560 $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$ alloxan (Sigma–Aldrich; St. Louis, USA) egyszeri intravénás adagolásával váltottuk ki.

Az állatokat – a 6.1. pontban leírtakkal egyező módon – egyedi ketrecekben helyeztük el, váltakozva 12 órán át mesterséges megvilágításban majd sötétben tartottuk, 20 C°-os átlaghőmérsékleten. Naponta kétszer (7.00 és 15.00 órakor) etettünk. Az eleség teljesértékű kutyatáp volt, ivóvíz állandóan az állatok rendelkezésére állt.

A cukorbeteg állatokat 8 héttel a diabetes indukciója után vontuk a kísérletbe. Azokat a kutyákat választottuk be, melyek vércukorszintje a 15 mmol/l értéket meghaladta.

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

A söntműtétet intravénás pentobarbital anaesthesiában (133 $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$ Nembutal, Phylaxia–Sanofi, Budapest), intubálás után, mesterséges lélegeztetés mellett (RO-5 respirator) végeztük. A hátsó végtagon, a comb belső oldalán 10 cm hosszú bőrmetszést ejtettünk, majd az arteria és vena femoralis kipreparálását követően oldalágaikat lekötöttük és az ereket 10 percig leszorítottuk. A sönt csoport egyedeinél a vena és az artéria közé egy 3–4 centiméteres side-to-side anasztomózist készítettünk, majd a műtét befejeztével zártuk a bőrt. A sönt vezetését tapintással ellenőriztük. Csak olyan állatokat használtunk a kísérletben, amelyekben a söntben az áramlás tapintható volt. Azokat az állatokat, amelyeknél az áramlás nem volt tapintható, kizártuk a kísérletből. A kontroll kutyákon is azonos műtéti beavatkozást végeztünk, sönt kialakítása nélkül.

A söntműtétet követően egy, vagy három nappal történt eutanázia után vizsgáltuk a kutyákat. Mintát vettünk a perifériás vérből, a coronariákból és a pericardialis folyadékból. A plazmát szeparáltuk és $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

A vérnyomást invazív úton az arteria femoralison keresztül az aortába vezetett katéteren mértük Statham p23Db nyomásmérővel (Wood Dale, USA). A szívfrekvenciát és az artériás középnyomást a vérnyomásgörbéből számolta az alkalmazott monitoring software (Hemosys, Experimetria Kft, Budapest).

A szív súlyát annak eltávolítása után rögzítettük. Ezután a pitvarokat közvetlenül az anulus fibrosus fölött körben leválasztottuk, majd a kamrákat szeparáltuk. A jobb kamra parietális falát a septum mentén végigmetszve eltávolítottuk. Ez a rész adta a súlymérésnél a jobb kamra súlyát, míg a septum a bal kamrafallal együtt képviselte a bal kamrát.

Extrakció: a plazmamintákat (1,5 ml) előzőleg 10%-os trifluor-ecetsavval (TFA) pH 4-re savanyítottuk, majd metanollal és 0,1%-os TFA-val előzetesen aktivált Sep-Pak C-18-as kromatográfiás oszlopra helyeztük. A peptidet 0,1%-os TFA pufferben oldott 80%-os acetonitrillel eluáltuk. Az eluátumot elpárologtattuk, majd radioimmunassay pufferben visszanyertük. A pericardialis folyadék peptidtartalmát extrakció nélkül direkt úton mértük.

Az endothelin-1, az N-terminális atrialis natriureticus peptid, és a natriureticus peptid radioimmunassay segítségével történő meghatározásához a mintákhoz a megfelelő, ^{125}I -al jelölt tracetert (jelölt ET-1, NT-ANP vagy ANP) és nyúlban termeltetett specifikus antitestet (anti ET-1, anti-NT-ANP vagy anti-ANP) tartalmazó szérumot adtunk primer antitestként. Majd az immunkomplexeket 24 óráig $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történt inkubáció után nyúl antitestre specifikus kecske ellenanyaggal, (második antitesttel) precipitáltuk 8%-os polietilén-glikol 6000 jelenlétében (15 perc inkubáció $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on). A precipitátum radioaktivitását centrifugálás után gamma számlálóval mértük.

Az intraassay variációs koefficiens alacsonyabb volt mint 10%, az interassay variációs koefficiens pedig alacsonyabb volt mint 15%.

A statisztikai analízishez az adatok eltéréseinek varianciáját Mann–Whitney teszttel vizsgáltuk. Az eltérést statisztikailag szignifikánsnak értékeltük 95%-os konfidencia szinten.

7.2. Eredmények

A diabeteses kutyák vérnyomása alacsonyabb volt, mint az egészséges kontroll állatoké. A sönt kialakítása 1 nap után tovább csökkentette a vérnyomást a cukorbeteg kutyákban. A metabolikusan egészséges állatokban a söntkeringés nem gyakorolt hatást a vérnyomásra.

Mind a jobb, mind a bal kamra súlya megnőtt a sönt hatására. A diabeteses csoportban a szív súlyának és a testsúlynak; hasonlóan a bal kamra súlyának és a testsúlynak az aránya megnőtt már 1 napos söntkeringés után, míg az anyagcsere egészséges csoportban hasonló változást csak 3 nap múlva tapasztaltunk (7. táblázat).

Az endothelinszint diabeteses állatok perifériás vérében szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollénál. Egészséges kutyákban sönt hatására nem változott a perifériás vérben az endothelinszint, diabeteses állatokban azonban csökkenést tapasztaltunk (5/A. ábra).

A coronariákban megfigyelt változás hasonló volt az előbbiekhöz: diabeteses állapotban az ET-1 szint sönt hatására szignifikánsan csökkent, míg egészséges állatokban nem volt szignifikáns változás (5/B. ábra).

A pericardialis folyadék és a coronariák plazmájának endothelinszintje egészséges állatokban magasabb volt a perifériás plazmában mértnél. Diabeteses állatokban azonban a három kompartment közül a pericardiumban mértük a legalacsonyabb ET-1 szintet, amelyet a sönt kialakítása sem változtatott meg (5/A–C. ábrák).

Az NT-ANP szint alakulása a perifériás vérben, coronariákban és a pericardialis folyadékban egyaránt analóg módon változott, nevezetesen a kontroll állatokban alacsony volt, sönt hatására azonban megemelkedett (6/A–C. ábrák).

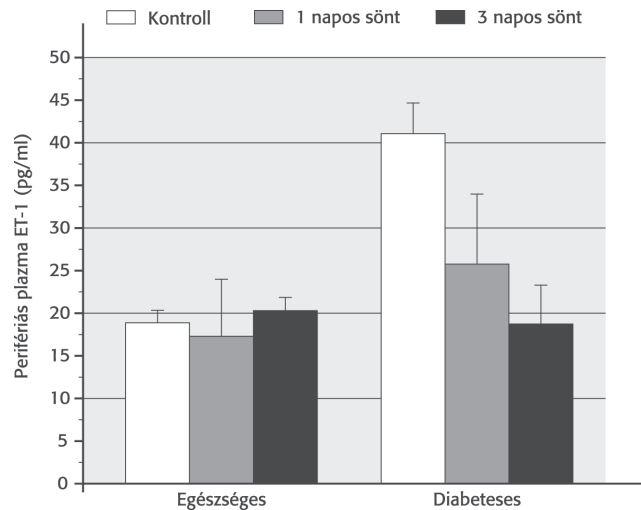
A perifériás plazma ANP szintje a kísérlet folyamán 3 napos söntkeringés után szignifikánsan emelkedett a kontroll értékhez képest egészséges és diabeteses csoportban egyaránt (7/A. ábra). A coronariákból származó minták ANP tartalma sem diabetes, sem söntkeringés hatására nem változott (7/B. ábra). A pericardialis folyadék ANP tartalma egészséges kutyákban 1 napos söntkeringés után szignifikánsan emelkedett, majd a harmadik napra csökkent. A diabeteses kutyákban a pericardialis folyadék ANP mennyisége nem változott söntkeringés hatására (7/C. ábra).

7. táblázat. Artériás középnyomás (AKNY), szív súlyának és test súlyának aránya (SZS/TS), bal/jobb kamra súlyának aránya a testsúlyhoz képest (BK/TS és JK/TS), és testsúly (TS) adatok az egyes csoportokban.

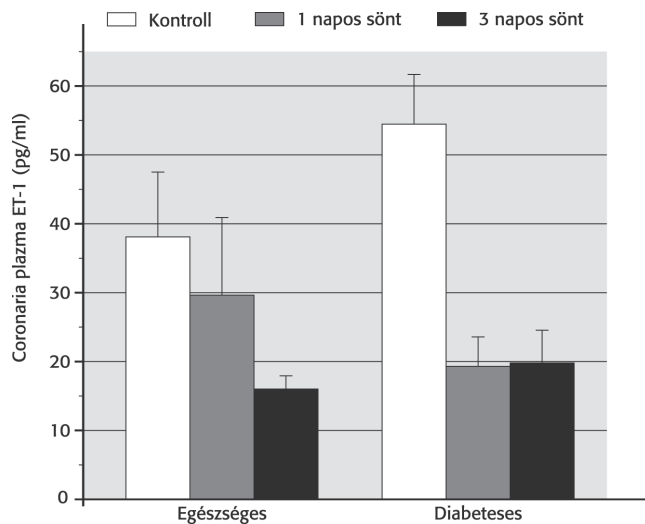
	AKNY (Hgmm)	SZS/TS (g/kg)	BK/TS (g/kg)	JK/TS (g/kg)	TS (kg)
Egészséges kontroll	89±6	6,0±0,2	3,89±0,32	1,21±0,1	22,6±1,7
Diabeteses kontroll	79±2	6,1±0,5	3,92±0,64	1,27±0,3	24,2±2,1
Egészséges 1 napos sönt	90±5	6,3±0,3	4,05±0,25	1,27±0,1	25,7±1,6
Egészséges 3 napos sönt	89±10	7,4±0,2	4,80±0,20	1,53±0,1	25,8±3,4
Diabeteses 1 napos sönt	72±3	7,7±0,5	5,03±0,42	1,47±0,1	21,0±0,9
Diabeteses 3 napos sönt	82±11	7,6±0,5	4,89±0,35	1,52±0,2	25,2±2,4

A diabeteses kontroll (áloperált) kutyák vérnyomása szignifikánsan alacsonyabb ($P < 0,05$) volt, mint az egészséges kontrollé. 1 napos söntkeringés után a diabeteses csoportban a vérnyomás tovább csökkent és szignifikánsan alacsonyabbnak ($P < 0,05$) adódott, mint az egészséges csoportban mért vérnyomás 1 napos söntkeringés után. A szív súlya a testsúlyhoz képest söntkeringés hatására megnőtt, ami egészségesekben 3 napos, míg a diabeteses csoportban már 1 napos söntkeringés hatására is szignifikáns ($P < 0,05$) volt. Hasonlóképpen a bal kamra–testsúly arány egészséges állatokban 3 napos, míg diabetesesekben már 1 napos söntkeringés után is szignifikáns ($P < 0,05$) emelkedést mutatott. A jobb kamra–testsúly arány 3 napos söntkeringés után mutatott szignifikáns emelkedést ($P < 0,05$) a normális keringési állapothoz képest diabeteses és egészséges csoportban egyaránt.

Az egészséges és diabeteses kontroll állatok (üres oszlopok) perifériás vérplazmájának ET-1 tartalma között szignifikáns különbség volt ($P < 0,05$). A diabeteses csoporton belül 3 napos söntkeringés (fekete oszlop) után a plazma ET-1 tartalma szignifikánsan csökkent ($P < 0,05$).



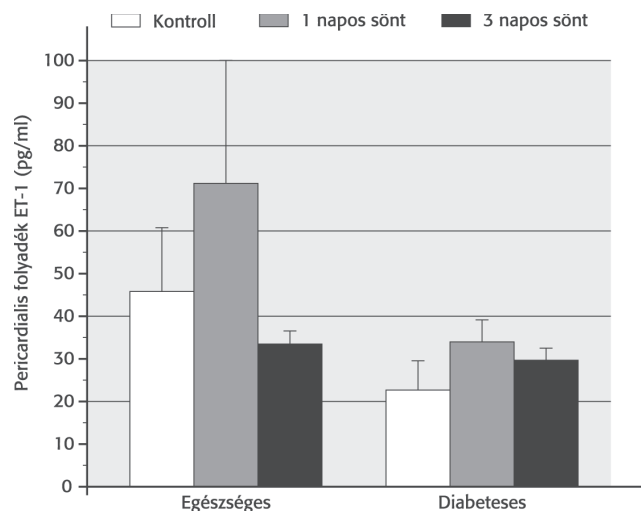
5/A. ábra. ET-1 szintek egészséges és diabeteses kutyák perifériás vérének plazmájában normális keringés mellett, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.



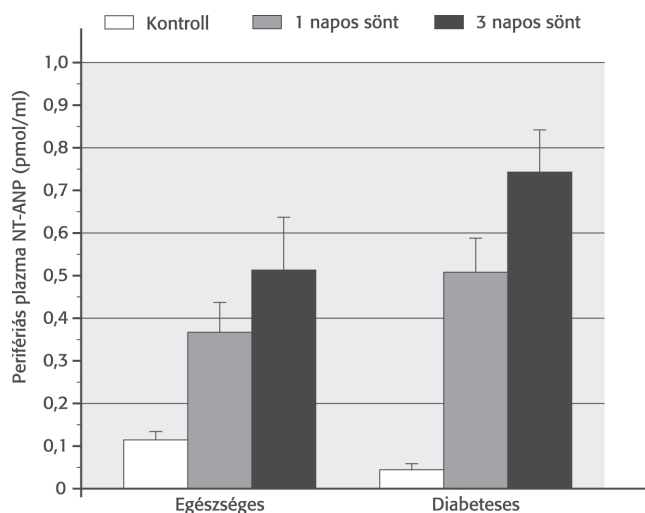
A diabeteses csoporton belül mind 1, mind 3 napos söntkeringés hatására szignifikánsan lecsökkent ($P < 0,05$) a coronaria sinusokban az ET-1 mennyisége.

5/B. ábra. ET-1 szintek egészséges és diabeteses kutyák coronaria sinusából vett vér plazmájában normális keringés mellett, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

A pericardialis folyadék ET-1 tartalma nem mutatott szignifikáns változást sem diabeteses állapot, sem sönt hatására.

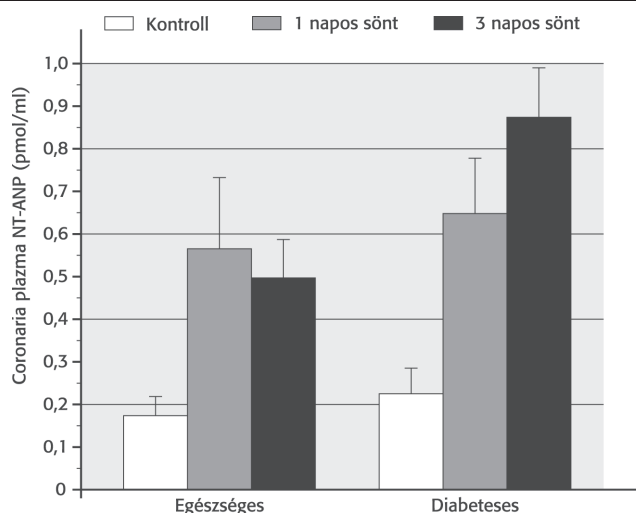


5/C. ábra. ET-1 szintek egészséges és diabeteses kutyák pericardialis folyadékában normális keringés mellett, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

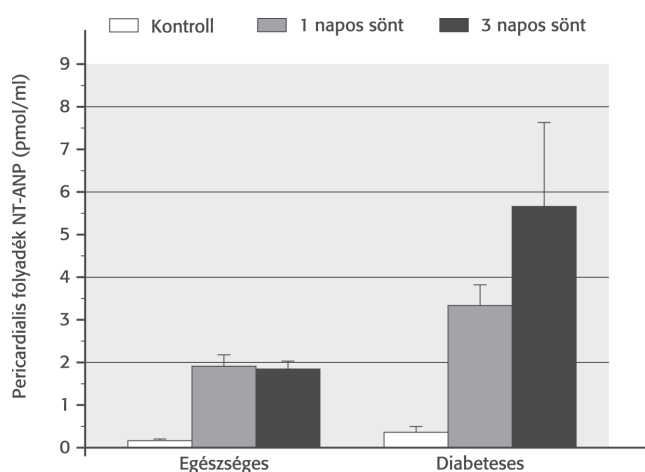


6/A. ábra. NT-ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák perifériás vérének plazmájában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

Mind 1, mind 3 napos söntkeringés szignifikánsan megnövelte ($P < 0,05$) a coronaria sinus NT-ANP tartalmát egészséges és diabeteses állatokban egyaránt. Három napos söntkeringés hatására az NT-ANP szint szignifikánsan magasabb volt ($P < 0,05$) a diabeteses, mint az egészséges csoportban.



6/B. ábra. NT-ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák coronaria sinusából vett vér plazmájában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

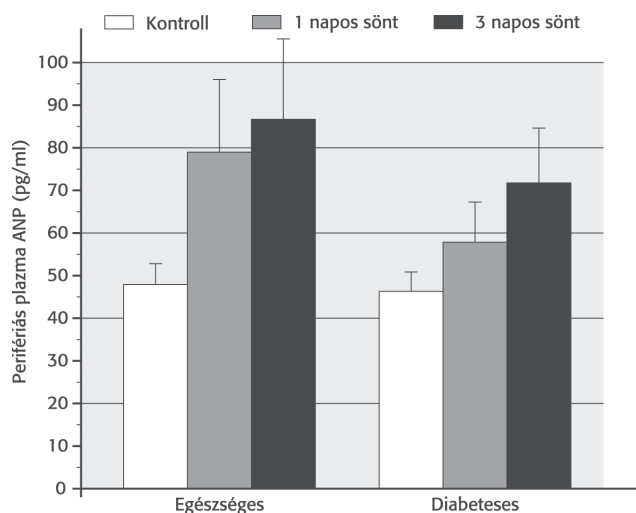


6/C. ábra. NT-ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák pericardialis folyadékában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

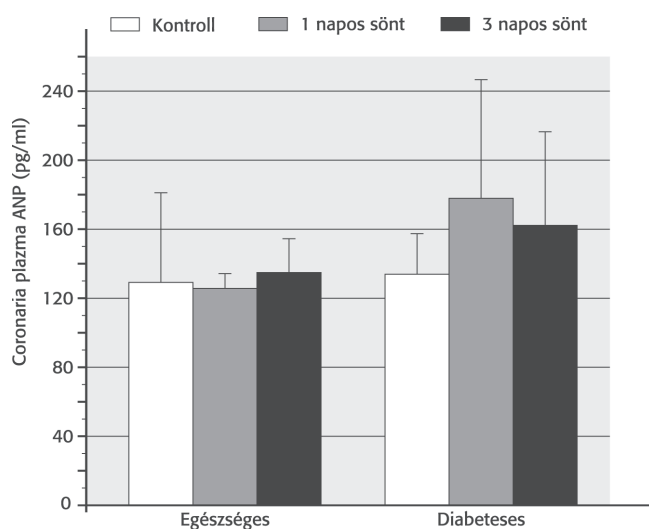
Az NT-ANP mennyisége szignifikánsan megnőtt ($P < 0,05$) már 1 napos söntkeringés hatására is egészséges és diabeteses kutyákban egyaránt. Három napos söntkeringés hatására mennyisége tovább emelkedett mindkét csoportban. Diabeteses kontroll állatokban az NT-ANP mennyisége szignifikánsan alacsonyabb volt ($P < 0,05$), mint az egészséges kontroll kutyákban.

Söntkeringés hatására a pericardialis folyadék NT-ANP szintje már 1 nap után szignifikánsan megemelkedett ($P < 0,05$) mindkét csoportban, és 3 napos söntkeringés után továbbra is szignifikánsan emelkedett ($P < 0,05$) maradt. A diabeteses kutyák NT-ANP szintje 1 napos söntkeringés után szignifikánsan magasabbnak ($P < 0,05$) adódott az egészséges csoportban 1 napos söntkeringés után mért értékénél.

Egészséges és diabeteses kutyákban 3 napos söntkeringés szignifikáns emelkedést ($P < 0,05$) idézett elő a perifériás vér plazmájának ANP tartalmában.



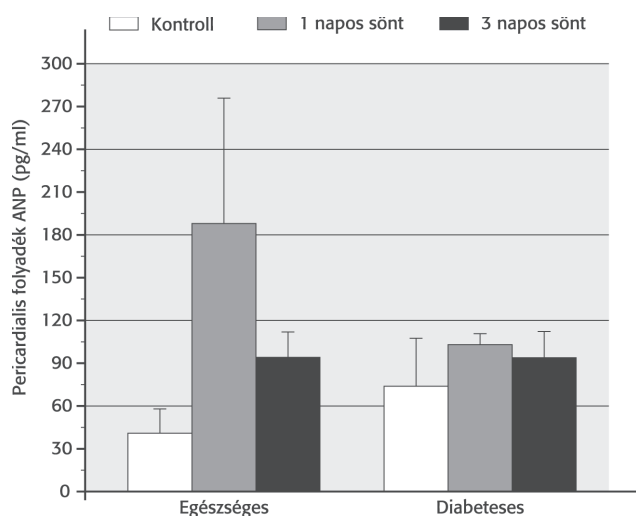
7/A. ábra. ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák perifériás vérének plazmájában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.



A coronaria sinusból nyert plazma ANP tartalma egészséges és diabeteses állatokban nem különbözött. Szignifikáns változás söntkeringés hatására sem volt megfigyelhető.

7/B. ábra. ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák coronaria sinusából vett vér plazmájában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

Egészséges kutyákban 1 napos söntkeringés hatására a pericardialis folyadék ANP tartalmának növekedése szignifikánsnak ($P < 0,05$) adódott a kontroll csoporthoz képest.



7/C. ábra. ANP szintek egészséges és diabeteses kutyák pericardialis folyadékában normális keringés, 1 napos és 3 napos söntkeringés után.

7.3. Megbeszélés

Kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy az endothelin-1, az N-terminalis natriureticus peptid és a natriureticus peptid szintje hogyan változik akut haemodinamikai terhelésre egészséges és diabeteses kutyában.

A haemodinamikai terhelést arteriovenosus sönttel modelleztük, amelyet az állat mindkét oldali arteria és vena femoralisa között alakítottunk ki.

Egy, vagy három nap időtartamú söntkeringés után elaltatott állatok szívének súlya megnőtt a testtömeghez képest. A szív súlyának és a testsúlynak az aránya, akárcsak a bal kamra–testsúly és jobb kamra–testsúly arány egyaránt megemelkedett diabeteses és egészséges kutyákban söntkeringés hatására. A szív súlyának növekedése mellett az NT-ANP mennyisége is megemelkedett az egészséges és a diabeteses állatokban egyaránt, ami arra utalt, hogy modellünkben a szívhipertrófia kialakulása megindult.

A hipertrófia a szív védekezési válasza a nyomás vagy mechanikai túlterhelésre. A megnövekedett falvastagság kezdetben kompenzálja a falra irányuló fokozott stresszt. A folyamatot a szívizomsejtek különféle morfológiai változásai jellemzik, többek között a sejtek méretének megnövekedése, emelkedett fehérjeszintézis és a sarcomerek fokozott átrendeződése. Megfigyelhető a szívizomsejtek apoptosisa és az interstitialis matrix mennyiségének felszaporodása és fibrosisa is, aminek következtében a kamrafal rugalmassága csökken. A szív terhelésének növekedésével a kontraktilitás is fokozódik, amelyet különféle autokrin és parakrin faktorok megemelkedett elválasztása kísér. Ilyenek az angiotenzin II és az endothelin-1 (Sadoshima et al. 1993, Yamazaki et al. 1996). Ugyanakkor változások állnak be a szívben folyó génexpresszióban is. Az azonnali–korai gének (c-fos, c-jun, Egr-1, c-myc, BNP-gén) expressziója 30–60 percen belül beindul (Yamazaki et al. 1995). Az intermedier–késői gének (ANP, szkeletális α -aktin és β -myozin nehéz lánc) átírása 12–24 órán belül detektálható, amely de novo fehérjeszintézist eredményez (Komuro és Yazaki 1993).

Lakó-Futó és munkatársai angiotenzin II által indukált nyomás túlterheléses modellben patkányokban a bal kamra súly/testsúly arányának 9%-os növekedését igazolták 12 óra után, amely 16%-ra emelkedett 72 óra elteltével. A bal kamrafal vastagságának megnövekedése ultrahangos vizsgálattal is igazolható volt. Megvizsgálták a c-fos és az ANP mRNS gének expresszióját is 12 és 72 óra elteltével. Az eredmények már 12 óra után többszörös emelkedést mutattak (c-fos: 10-szeres,

ANP mRNS: 2,9-szeres) a 72 óra elteltével mérhető expresszió növekedés a c-fos gén esetén 6-szoros, az ANP mRNS esetén 12-szeresnek adódott (Lakó-Futó et al. 2003).

Sármán és munkatársai hasonló modellben (AT II okozta nyomás túlterhelés hatására létrejövő szívhipertrófia) vizsgálták a szív strukturális változásait 6 napos kezelés után. Eredményeik szerint a bal kamra súlya és a testsúly aránya 42%-kal növekedett, ugyanakkor a szívizomsejtek keresztmetszete is drámaian, 80%-kal megemelkedett. A bal kamrafal relatív vastagsága (2 x bal kamra átlagos vastagsága és bal kamra végdiastolés átmérőjének hányadosa) 2,7-szeres növekedést mutatott. Ugyanakkor az interstitialis fibrosis is jelentős volt (Sármán et al. 2007).

Kísérletünkben az alkalmazott nagymértékű akut haemodinamikai, vagy más modellekben látható akut nyomásterhelés (pl. angiotenzin II-vel) sokkal erősebb stimulus, mint ami akár egészséges, akár kóros állapotban természetesen előfordul, ugyanakkor lehetővé teszi egyes – többnyire hosszú idő alatt kialakuló – patológiás állapotok modellezését kísérletes körülmények között rövidebb időintervallum alatt. A nyomás vagy volumen túlterheléses kísérletekben kezdetben hirtelen és nagyon nagy mértékű terhelés éri a szívet, amihez a szervezet megpróbál alkalmazkodni és különféle válaszreakciók útján a terhelést csökkenteni.

Volumen túlterhelés esetén többek között az angiotenzin II mennyisége is megnő, sőt sokan elsődleges szerepet tulajdonítanak az AT II-nek a szívhipertrófia kialakulásával kapcsolatban (Kim és Iwao 2000). Az AT II adagolásával kialakított hipertrófiás kísérletekben is igazolódott, ahogy számos más irodalmi adat is alátámasztja, hogy a szív gyors adaptációjának folyamán a génexpresszió pár percen belül indukálódik.

Esetünkben nem vizsgáltuk a szívsúly/testsúly arány növekedésének molekuláris, vagy strukturális hátterét, azonban az irodalmi adatokat is figyelembe véve kijelenthetjük, hogy a hipertrófia folyamata esetünkben is beindult.

A diabeteses kontroll kutyák vérnyomása szignifikánsan alacsonyabb ($P < 0,05$) volt, mint az egészséges kontrollé, ami a kezeletlen diabetesben kifejlődő folyadék- és elektrolithiánynak tulajdonítható. Egy napos söntkeringés hatására fellépő akut haemodinamikai terhelés tovább csökkentette a cukorbeteg kutyák vérnyomás értékeit. Ugyanakkor egészséges kutyákban a söntkeringés nem gyakorolt hatást a vérnyomásra.

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

Diabetesez állatokban söntkeringés hatására az NT-ANP szintje mindhárom kompartmentben jobban megemelkedett, mint anyagcsere-egészségesezben. Hosszabb ideig működő sönt tovább emelte az NT-ANP szintet diabetesez állatokban, míg egészségesezben csupán a perifériás vérben volt megfigyelhető ilyen jellegű változás.

A natriureticus peptid kiválasztásának szabályozásában szerepet játszik a protein-kináz-C szignáltranszdukciós út, amely számos inger (falfeszülés, alfa-adrenerg-, endothelin-, AT I-receptor) hatását közvetíti és diabetesben stimulált állapotban van, ami az angiotenzin-receptorok blokkolásával megelőzhető (Malhotra et al. 1997).

Szakirodalmi források utalnak arra is, hogy a renin-angiotenzin-aldoszteron és a katekolamin rendszerek fontos szerepet játszanak a diabetesben megváltozott génexpresszió kialakulásában, amit úgy értelmeznek, mint visszatérést a „fetalis génprogramhoz”. Ez magába foglalja a remodelling indukcióját, valamint az ANP génjének expresszióját is. Az ANP expressziója, ami normál körülmények között csak a pitvari myocardiumra korlátozódik, remodelling során újra beindul a kamrai szívizomzatban is, ahogy az a magzati életben megfigyelhető (Bell 2003). A béta-blokkoló terápia visszafordítja ezt a megváltozott génexpressziót (Lowez et al. 2002).

A natriureticus peptidek és N-terminális fragmentumuk koncentrációjának meghatározását, mint biokémiai vizsgálómódszert sokhelyütt alkalmazzák a szívfunkció objektív megítélésére, szívelégtelenség diagnosztizálására, progressziójának követésére, valamint a terápia hatásosságának ellenőrzésére. A plazmakoncentrációjukban bekövetkező emelkedés megbízható és érzékeny jelzője a funkcióromlásnak (Moe 2006) emberben és kutyában is (Boswood et al. 2008, Haddad et al. 2008, Schellenberg et al. 2008). A biológiailag aktív ágenssel ekvimoláris mennyiségben termelő N-terminális fragmentum hosszabb féléletideje miatt alkalmasabb a vizsgálatra, amit kísérletünk eredményei is alátámasztanak. Ezekből látható, hogy az NT-ANP mennyisége nemcsak sokkal érzékenyebben, de időbeli változásában is pontosabban jelzi a haemodinamikai állapot eltéréseit.

A natriureticus peptid elválasztásában az ET-1-nek is szerepet tulajdonítanak (Ruskoaho et al. 1997). Kísérletünkben ezért mértük ugyanazon három kompartment, a perifériás vérplazma, a coronaria sinus és a pericardialis folyadék endothelin tartalmát is egészséges és diabeteses állatban akut haemodinamikai terhelés hatására és fiziológiás keringés mellett.

Egészséges állatokban a plazma endothelin tartalma nem változott akut söntcirkuláció hatására sem egy, sem három nap alatt. Ugyanez az érték szignifikánsan csökkent diabeteses kutyákban 3 napos söntkeringés hatására. A coronariákban az ET-1 szint magasabb volt a szisztémás keringésben mért értéknél, ami arra enged következtetni, hogy a szív aktívan részt vesz a vér endothelinszintjének kialakításában.

Egészséges állatokban a pericardiumban mért ET-1 szintek magasabbak voltak a plazmában mértnél, amely összhangban áll a különböző fajokra, (patkány, kutya és ember) vonatkozó irodalmi adatokkal (Horkay et al. 1998). Ehhez hozzájárulhat az is, hogy az ET-1 hatszor gyorsabban eliminálódik a plazmából, mint a pericardialis folyadékból (Shiba et al. 1989, Szokodi et al. 1998). A coronariák ET-1 szintje hasonlóképpen változott a plazma ET-1 szintjéhez, ugyanakkor nem volt következetes változás megfigyelhető a pericardium ET-1 tartalmában. Diabeteses állatokban a sönt a szisztémás keringésben és a coronariákban is csökkentette az ET-1 koncentrációját. Hasonló, bár enyhébb mértékű változások az egészséges állatok coronariás vérében is megfigyelhetők voltak. Mindez arra utal, hogy a pericardialis folyadék funkcionálisan külön egységet képvisel.

Az endothelin szívre kifejtett hatásai szerteágazók. Erős vasoconstrictiót és direkt arrhythmiát kiváltó hatása mind rövid, mind hosszú távon káros. Az ET-1 által előidézett szövetproliferáció szintén patológiás következményekkel jár, melyek csupán hosszabb idő után nyilvánulnak meg. Másrészt azonban az ET-1-nek pozitív inotrop hatása előnyös következményekkel járhat, mivel befolyásolja a szív inotrop választ, amely a Frank–Starling mechanizmuson keresztül akut adaptációra ad lehetőséget. Kísérletünkben nem tapasztaltunk változást a szívritmusban, és nem figyeltünk meg myocardialis ischaemiára utaló jelet sem.

A fentiek alapján feltételezzük, hogy a plazma ET-1 szintjében megfigyelt akut változások nem jártak rövidtávú funkcionális következményekkel diabeteses kutyákban a mi modellünkben. A kísérlet eredménye szerint az endothelinrendszer másképp reagál akut haemodinamikai terhelésre alloxan indukálta diabeteses és metabolikusan egészséges kutyában.

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

8. Endothelin által kiváltott kamrai arrhythmiai vizsgálata kísérletes diabetes mellitusban kutyában

8.1. Anyag és módszer

A kísérletben 19 egészséges és 4 diabeteses kutya szerepelt. Az állatok tartása meg-
egyezett az előző kísérletekben leírtakkal.

Az 1-es (n = 4), 2-es (n = 11) és 3-as (n = 4) csoportba metabolikusan egészséges
állatok tartoztak, míg a 4-es csoport (n = 4) kísérletesen diabetesessé tett kutyákból
állt. A cukorbetegséget 560 $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$ alloxan (Sigma–Aldrich; St. Louis, USA) egy-
szeri intravénás adagolásával váltottuk ki. A kísérletet 8 hét diabeteses kórelőzmény
után végeztük el. A kísérletbe vont diabeteses kutyák vércukorszintje meghaladta a
15 mmol/l értéket.

A kutyákat intravénásan adott pentobarbitallal altattuk (133 $\mu\text{mol}/\text{ttkg}$ Nembutal,
Phylaxia–Sanofi, Budapest), a műtéteket intubálás után mesterséges lélegeztetés
mellett (RO-5 respirator) végeztük. Az arteria femoralison keresztül az aorta abdo-
minalisba vezetett nyomásérzékelő (p23Db, Statham, Wood Dale, USA) segítségével
véres úton mértük a vérnyomást és a szívfrekvenciát.

Transsternalis thoracotomiát követően elektromágneses áramlásmérőt (SP2202,
Gould–Statham, Oxnard, USA) helyeztünk a bal elülső leszálló (LAD) coronaria ágba.
A műszertől disztálisan ugyanebbe az érbe katétert (Vygon 13210) helyeztünk az
intracoronariás infúzió kivitelezéséhez.

Az artériás középnyomás, a szívfrekvencia és a coronariaáramlás folyamatos
regisztrálása mellett standard elektrokardiogramm (EKG) is készült. Az alap haemo-
dinamikai paramétereket (szívfrekvencia, vérnyomás, EKG) az Experimetria Kft He-
mosys software-rel (EKG Software Experimetria Hemosys) regisztráltuk.

Lokális hyperglycaemia kiváltására 25 mmol/l glükóz oldatot infundáltunk a katé-
teren keresztül a bal elülső leszálló koszorúér ágba. Az infúzió sebességét az áram-
lásmérő segítségével mért értéknek megfelelően állítottuk be olyan módon, hogy az
érben lokálisan folyamatosan 20 mmol/l körüli glükózkoncentráció legyen.

Az egyensúlyi állapot beállása után az alapértékek felvétele történt. Ezután intra-
coronariás infúzióban a következő anyagokat kapták a kutyák: az 1-es csoport a tiszta

oldószert, fiziológiás sóoldatot. A többi csoport (egészséges: 2-es és 3-as csoport és diabeteses: 4-es csoport) 33 pmol/perc ET-1-et. A 3-as csoportban az ET-1 adásával egy időben 25 mmol/l glükóz oldatot is infundáltunk a lokális hyperglykaemia lehetséges hatásainak felderítésére.

A statisztikai adatok összehasonlításához Student t-tesztet alkalmaztunk, (szignifikanciaszint $P < 0,05$).

8.2. Eredmények

Az artériás középnyomást, a szívfrekvenciát és a coronariaáramlást rögzítettük a kísérleti elrendezés kialakítása és az egyensúlyi viszonyok beállása után, majd az egészséges kutyákból álló 1-es csoportnak fiziológiás sóoldat infúzióját indítottuk.

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

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

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

Az állatoknak az infúziók (fiziológiás sóoldat, ET-1, glükózoldat) adagolását a kísérlet 0. percétől a kísérlet befejezéséig folytattuk. A kísérleteket az ET-1-et kapó csoportokban a kamrafibrilláció beállásakor fejeztük be, a kontroll csoportban pedig a 40. percben mért adatok felvétele után. A 0. és a 40. percben mért adatokat a 8. táblázat tartalmazza.

8. táblázat. Az artériás középnyomás, szívfrekvencia és coronariaáramlás változása endothelin-1 infúzió hatására.

1. csoport: metabolikusan egészséges kutyák fiziológiás sóoldat infundálása mellett
2. csoport: metabolikusan egészséges kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása mellett
3. csoport: metabolikusan egészséges kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása és lokális hyperglykaemia (HG) mellett
4. csoport: diabeteses kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása mellett

Csoport	Artériás középnyomás (Hgmm)		Szívfrekvencia (1/perc)		Coronariaáramlás (ml/perc)	
	0. perc	40. perc	0. perc	40. perc	0. perc	40. perc
1. Fiz. sóold.	100±13	100±15	173±15	165±30	74±25	73±19
2. ET-1	110±17	118±10	183±25	143±29	96±36	96±45
3. ET-1+HG	104±11	109±13	176±21	190±17	82±27	72±18
4. ET-1+DM	96±28	78±18	195±30	165±21	78±17	75±7

A haemodinamikai paraméterek: az artériás középnyomás, a szívfrekvencia, a coronariaáramlás gyakorlatilag változatlan maradt a csak oldószert (fiziológiás sóoldat) kapó kontroll csoportban a kísérlet folyamán.

A 4-es csoportban (ET-1-et kapó diabeteses kutyák) az artériás középnyomás szignifikáns csökkenése ($P < 0,01$) az egészséges, szintén ET-1-el kezelt 2-es csoporthoz képest a kísérlet 40. percében az időközben fellépett kamrafibrillációnak tulajdonítható.

A szívfrekvencia szignifikáns emelkedése ($P < 0,05$) a kísérlet 40. percénél a 3-as csoportban (ET-1+lokális hyperglykaemia) a csak ET-1-et kapó 2-es csoporthoz képest a tachycardia megjelenésének időbeliségével magyarázható: a 3-as csoportban $26,3 \pm 6,7$ perc, míg a 2-es csoportban $30,0 \pm 12,4$ perc a tachycardia megjelenéséig eltelt átlagos idő (9. táblázat).

9. táblázat. Az intracoronariás ET-1 infúzió kezdetétől az arrhythmia megjelenéséig eltelt idő.

1. csoport: metabolikusan egészséges kutyák fiziológiás sóoldat infundálása mellett
2. csoport: metabolikusan egészséges kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása mellett
3. csoport: metabolikusan egészséges kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása és lokális hyperglykaemia (HG) mellett
4. csoport: diabeteses kutyák 33 pmol/perc ET-1 infundálása mellett

Csoport	Eltérés megjelenéséig eltelt idő (perc)		
	Extrasystole	Tachycardia	Kamrafibrilláció
1. Fiz. sóold.	0	0	0
2. ET-1	24,1±7,6	30,0±12,4	36,1±15,2
3. ET-1+HG	29,8±27,1	26,3±6,7	32,0±9,9
4. ET-1+DM	18,7±8,2	26,7±7,6	33,0±5,7

A fiziológiás sóoldattal infundált csoportban nem jelentkezett arrhythmia (1-es csoport). Metabolikusan egészséges kutyákban az endothelin infundálásának 24. perce körül nagyobb számban fordult elő kamrai extrasystole, esetenként coupletek, trip-letek. Extrasystole szignifikánsan hamarabb ($P < 0,05$) jelent meg (18,7 percnél) diabeteses állatokban (4-es csoport) az egészséges, ET-1-et és glükóz infúziót kapó 3-as csoporthoz és az egészséges, csak ET-1-et kapó 2-es csoporthoz képest.

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

A lokális hyperglykaemia, amit az ET-1 adagolása mellett 25 mmol/l glükóz egyidejű infundálásával alakítottunk ki (3-as csoport), nem befolyásolta az arrhythmia megjelenésének idejét a csupán ET-1-et kapó 2-es csoportban megfigyelthez képest. A csoportok között nem mutatkozott eltérés a megfigyelt kamrafibrillációk számában, vagy a kísérlet befejezéséig eltelt időben (9. táblázat).

8.3. Megbeszélés

Kísérletünk célja a diabeteses és az egészséges szív arrhythmogen hatásra adott válaszánaK összehasonlítása volt az arrhythmiaK fellépésének időbelisége és száma alapján.

A diabetes következtében kialakuló szénhidrát-anyagszereZavar miatt többek között súlyos késői cardiovascularis elváltozások is megfigyelhetők, amelyek érintik egyrészt magát a szívet (diabeteses cardiomyopathia), másrészt hatnak az érhálózatra (atherosclerosis, megváltozott vasomotoros válaszkészség: fokozott vasoconstrictio és csökkent vasodilatatio hajlam) is.

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

Az ET-1 okozta arrhythmiaK háttérben feltehetően a szív sejtjeiben létrejövő akciós potenciál időtartamának megnövekedése és a Purkinje rostokban kialakult korai utódepolarizációK állnak (Merkely et al. 1998, Szokodi et al. 1997).

Az akciós potenciál megnyúlása ET-1 hatására egyértelműnek látszik (Wainwright 2005), patomechanizmusáról azonban több eltérő elképzelés látott napvilágot. Yorikane és mtsai (1991) szerint a folyamat háttérben a Ca^{2+} -csatornaK működésének megváltozása áll. Másik vélemény szerint (Kim 1991) az akciós potenciál ET-1 hatására történő megnyúlása a befelé irányuló K^+ ionáram miatt jön létre.

Kísérleti adatok szerint magas dózisú intracoronariás ET-1 infúzió myocardialis ischaemiát eredményezett, amely szintén arrhythmogen hatású, így az ET-1 direkt és indirekt arrhythmogen hatása is érvényesült és tovább rövidítette a ventricularis tachycardia megjelenéséig eltelt időt (Yorikane et al. 1991).

Tóth és munkatársai (Tóth et al. 1995) kísérletei alapján magas dózisú (60 pmol/perc) ET-1 intracoronariás infúzióját követően a kísérletben alkalmazott kutyák vérnyomása és szívfrekvenciája nem változott. A coronariaáramlás viszont

mintegy 32%-kal csökkent, de még emellett a jelentős mértékű csökkenés mellett mért ST-szakasz eleváció/depresszió sem haladta meg a 0,1 mV-ot az EKG görbén. A QT-szakasz hossza azonban jelentősen megnőtt.

Alacsony dózisu (30 pmol/perc) intracoronariás ET-1 infúzió hatására a szív irritabilitása nőtt és jellemző ventricularis tachycardia lépett fel myocardialis ischaemiára utaló jelek nélkül, ami az ET-1 direkt arrhythmogen hatásának tulajdonítható. Alacsony dózisu ET-1 adása mellett rögzített EKG-görbén a fő változás a QT-szakasz megnyúlása volt, amely az akciós potenciál meghosszabbodásának EKG jele (Tóth et al. 1995).

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

Háromdimenziós térképtechnikával megállapították, hogy az ET-1 által kiváltott arrhythmia mono- vagy multifokális aktivitású. Reentry mechanizmus azonban nem igazolódott (Merkely et al. 1998). (Reentry: az ingerület a szív egy adott területét körforgáson keresztül több alkalommal újra ingerli. Az egyetlen szívciklustól akár korlátlan ideig fennmaradó reentry körben a vándorló ingerület a szív többi részéhez vezetődve ritmuszavart válthat ki.)

A diabetesben kialakult hyperglykaemia emeli az ET-1 koncentrációját, ugyanakkor növekszik az aktív ET-1 előállításában fontos szerepet játszó ECE-1 enzim aktivitása is. Ezek mellett kimutatták a hatás közvetítésében szerepet játszó ETA receptorok szintjének emelkedését is a szívben (Alabadi et al. 2004, Chen et al. 2000, Wu et al. 2000). Az ET-1 receptorhoz való affinitása szintén növekszik (Cardillo et al. 2002). A hyperglykaemia endothelinrendszerre gyakorolt hatása érzékenyítheti a diabeteses szívet, ami malignus arrhythmiaákhhoz vezethet.

Eredményeink szerint a lokális hyperglykaemia nem befolyásolta az extrasystolék megjelenésének időpontját. Ennek feltehetően az az oka, hogy a magas vércukor koncentráció okozta változások nem akut hatásként jelentkeznek, a diabeteses komplikációk kifejlődéséhez hosszú időre van szükség. A lokális hyperglykaemia önmagában tehát nem tekinthető arrhythmogen faktornak, a hosszas fennállása következtében kialakult kóros elváltozások azonban érzékenyítik a szívet az arrhythmogen hatásokra.

Kísérletünkben a kamrai arrhythmikiák az infúzió kezdetéhez képest hamarabb jelentek meg cukorbeteg állatokban, ami alátámasztja a diabeteses szív arrhythmogen anyagokkal szemben fennálló fokozott érzékenységet. Ugyanakkor a kamrafibrillációk számában és a vizsgálatok fibrilláció miatti befejezéséig eltelt időben nem volt különbség az egyes csoportok között.

Ebben a kísérletben igazoltuk, hogy a diabeteses szív érzékenyebben reagál az arrhythmogen hatásra, melyet kísérletünkben alacsony dózisú intracoronariásan bejuttatott ET-1-el idéztünk elő.

A fentiek alapján a diabeteses szívre az ET-1 erőteljesebb arrhythmogen hatást gyakorolt, mint egészséges szívre, ami alapján javasolt a gyakorlatban a diabeteses beteg kezelésénél az alkalmazni kívánt szer (pro)arrhythmogen mellékhatását figyelembe venni és szükség esetén antiarrhythmias kezelést bevezetni.

9. Új tudományos eredmények

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

10. Irodalom

1. ALABADI A., MIRANDA F.J., LLORENS S., CENTENO J.M., MARRACHELLI V.G., ALBORCH E.: Mechanisms underlying diabetes enhancement of endothelin-1 induced contraction in rabbit basilar artery. *Eur. J. Pharmacol.* 2004. 3. 289–296.
2. ASIF M., EGAN J., VASAN S., JYOTHIRMAYI G.N., MASUREKAR M.R., LOPEZ S., WILLIAMS C., TORRES R.L., WAGLE D., ULRICH P., CERAMI A., BRINES M., REGAN T.J.: An advanced glycation endproduct cross-link breaker can reverse age-related increases in myocardial stiffness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. 6. 2809–2813.
3. AWAD J.A., GUIDOIN R.G.M., HOSSEINZADEH M., MAROIS M., MARTIN L., PARADIS R., ZINGG W.: Effect of diabetes on the healing process of synthetic grafts implanted in dogs: a preliminary study. *Biomaterials.* 1989. 9. 590–597.
4. BAGNALL A.J., KELLAND N.F., GULLIVER-SLOAN F., DAVENPORT A.P., GRAY G.A., YANAGISHAWA M., WEBB D.J., KOTELVTSEV Y.V.: Deletion of endothelial cell endothelin B receptors does not affect blood pressure or sensitivity to salt. *Hypertension.* 2006. 48. 286–293.
5. BAILY C.J., TURNER R.C.: Metformin. *N. Engl. J. Med.* 1996. 334. 574–578.
6. BALFOUR J.A., MCTAVISH D.: Acarbose: an update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus. *Drugs.* 1993. 46. 1025–1054.
7. BARTON M., HAUDENSCHILD C.C., USCIO L.V.: Endothelin ETA receptor blockade restores NO-mediated endothelial function and inhibits atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998. 95. 14367–14372.
8. BASHER A.W., ROBERTS S.: Ocular manifestations of diabetes mellitus: diabetic cataracts in dogs. *Vet. Clin. North Am.* 1995. 25. 661–676.

9. BEHREND E.N.: Diabetes mellitus: an update on oral hypoglycemic agents and monitoring options. *Vet. Med.* 2002. 97. 743–751.
10. BELCHER G., LAMBERT C., EDWARDS G., URQUHART R., MATTHEWS D.R.: Safety and tolerability of pioglitazone, metformin, and gliclazide in the treatment of type-2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2005. 70. 53–62.
11. BELL D.S.: Heart failure: the frequent, forgotten, and often fatal complication of diabetes. *Diabetes Care.* 2003. 26. 2433–2441.
12. BELLIE J., THULLIEZ C., JOANNIDEZ R.: Contribution of endothelium-derived hyperpolarizing factors to the regulation of vascular tone in humans. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2008. 22. 363–377.
13. BENNETT N.: Monitoring techniques for diabetes mellitus in the dog and the cat. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 2002. 2. 65–69.
14. BEST P.J., MCKENNA C.J., HASADI D.: Chronic endothelin-receptor antagonism preserves coronary endothelial function in experimental hypercholesterolemia. *Circulation.* 1999. 99. 1747–1752.
15. BHANOT S., THOMPSON K.H., MCNEILL J.H.: Essential trace elements of potential importance in nutritional management of diabetes mellitus. *Nutr. Res.* 1994. 14. 593.
16. BLOODWORTH J.M.B., MOLITOR D.L.: Ultrastructural aspects of human and canine diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol.* 1965. 4. 1037–1048.
17. BOSWOOD A., DUKES-MCEWAN J., LOUREIRO J., JAMES R.A., MARTIN M., STAFFORD-JOHNSON M., SMITH P., LITTLE C., ATTREE S.: The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *J. Small Anim. Pract.* 2008. 1. 26–32.
18. BROWNLEE M., CERAMI A.: The biochemistry of the complications of diabetes mellitus. *Ann. Rev. Biochem.* 1981. 50. 385–432.
19. BROWNLEE M., VLASSARA H., CERAMI A.: Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann. Intern. Med.* 1984. 101. 527–537.

20. BRUNNER F., BRÁS-SILVA C., CERDERIA A.S., LEITE-MOREIRA A.: Cardiovascular endothelins: Essential regulators of cardiovascular homeostasis. *Pharmacol. Ther.* 2006. 111. 508–531.
21. CARDILLO C., CAMPIA U., BRYANT M.B., PANZA J.A.: Increased activity of endogenous endothelin in patients with type II diabetes mellitus. *Circulation.* 2002. 14. 1783–1787.
22. CARTRON J.P., ELION J.: Erythroid adhesion molecules in sickle cell disease: effect of hydroxyurea. *Transfus. Clin. Biol.* 2008. 15. 39–50.
23. CATCHPOLE B., RISTIC J.M., FLEEMAN L.M., DAVISON L.J.: Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks? Review. *Diabetologia Clinical and Experimental Diabetes and Metabolism.* Springer–Verlag. 2005.
24. CERIELLO A.: Coagulation activation in diabetes mellitus: The role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia.* 1993. 36. 1119–1125.
25. CHEN S., EVANS T., MUKHERJEE K., KARMAZYN M., CHAKRABARTI S.: Diabetes-induced myocardial structural changes: role of endothelin-1 and its receptors. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2000. 9. 1621–1629.
26. CHRISTOPHER M.M.: Relation of endogenous Heinz-bodies to disease and anemia in cats: 120 cases (1978–1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1989. 194. 1089–1095.
27. CHRISTOPHER M.M.: Hematologic complications of diabetes mellitus. *Vet. Clin. North Am.* 1995. 25. 625–637.
28. CHRISTOPHER M.M., BROUSSARD J.D., PETERSON M.E.: Heinz-body formation associated with ketoacidosis in diabetic cats. *J. Vet. Intern. Med.* 1995. 9. 24–31.
29. CODY R.J., HAAS G.J., BINKLEY P.F.: Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 1992. 85. 504–509.
30. CONIFF R.F., SHAPIRO J.A., SEATON T.B.: A double-blind placebo controlled trial evaluating the safety and efficacy of acarbose for the treatment

- of patients with insulin-requiring type II diabetes. *Diabetes Care*. 1995. 18. 928–932.
31. COOPERSTEIN S.J., WATKINS D.: *The Islets of Langerhans*. Academic Press. New York. 1981.
 32. COWAN S.M., BUNCH S.E.: Oral antidiabetic drugs for cats. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2001. 23. 633–641.
 33. CUSI K., CONSOLI A., DEFRONZO, R.A.: Metabolic effects of metformin on glucose and lactate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endoc. Metab.* 1996. 81. 4059–4067.
 34. DE BOLD A.J., BORENSTEIN H.B., VERESS A.T., SONNENBERG H.: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.* 1981. 1. 89–94.
 35. DE BOLD A.J.: Atrial natriuretic factor of the rat heart. Studies on isolation and properties. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1982. 2. 133–138.
 36. DE BOLD A.J.: Atrial natriuretic factor: a hormone produced by the heart. *Science*. 1985. 230. 767–770.
 37. DEFRONZO R.A.: Pharmacologic therapy for type-2 diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 1999. 131. 281–303.
 38. DHAUN N., POLLOCK D.M., GODDARD J., WEBB D.J.: Selective and mixed endothelin receptor antagonism in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2007. 28. 573–579.
 39. DIEHL K.J.: Long-term complications of diabetes mellitus, part II: gastrointestinal and infectious. *Vet. Clin. North Am.* 1995. 25. 731–751.
 40. DIMITRIADIS G.D., TESSARI P., GO V.L.W.: Alpha-glucosidase inhibition improves postprandial hyperglycaemia and decreases insulin requirements in insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. 1985. 34. 261–265.
 41. DOUBELL A.F., THIBAUT G.: Calcium is involved in both positive and negative modulation of the secretory system for ANP. *Am. J. Physiol.* 1994. 26. 1854–1863.

42. DRIMAL J., KNEZL V., DRIMAL J. Jr., BAUEROVÁ K., KETTMANN V., DOHERTY A.M., STEFEK M.: Cardiac effects of endothelin-1 (ET-1) and related C terminal peptid fragment: increased inotropy or contribution to heart failure? *Physiol. Res.* 2003. 52. 701–708.
43. DUPUIS J., GORESKY C.A., FOURNIER A.: Pulmonary clearance of circulating endothelin-1 in dogs in vivo: exclusive role of ETB receptors. *J. Appl. Physiol.* 1996. 81. 1510–1515.
44. EHMKE H., FAULHABER J., MUNTER K.: Chronic ETA-receptor blockade attenuates cardiac hypertrophy independently of blood pressure effects in renovascular hypertensive rats. *Hypertension.* 1999. 33. 954–960.
45. EMORI T., HIRATA Y., IMAI T., EGUCHI S., KANNO K., MARUMO F.: Cellular mechanism of natriuretic peptides-induced inhibition of endothelin-1 biosynthesis in rat endothelial cells. *Endocrinology.* 1993. 133. 2474–2480.
46. ETTINGER S.J., FELDMAN E.C.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* Elsevier Saunders. Philadelphia. 2005.
47. FALCHUK K.R., CONLIN D.: The intestinal and liver complications of diabetes mellitus. *Adv. Intern. Med.* 1993. 38. 269–286.
48. FEIN F.S., SONNENBLICK E.H.: Diabetic cardiomyopathy. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 1994. 1. 65–73.
49. FELDMAN E.C., NELSON R.W.: *Diabetes mellitus. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction.* WB Saunders. Philadelphia. 1987.
50. FÉRY F., PLAT L., BALASSE E.O.: Effects of metformin on the pathways of glucose utilization after oral glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Metabolism.* 1997. 46. 227–233.
51. FISHER M.: Injuries to the vascular endothelium: vascular wall and endothelial dysfunction. *Rev. Neurol. Dis.* 2008. 1S. 4–11.
52. FLYNN T.G., DE BOLD M.L., DE BOLD A.J.: The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 1983. 117. 859–865.

53. FÖVÉNYI J., HALMOS T., POGÁTSA G.: *Diabetologia*. Springer. Budapest. 2001.
54. GAÁL T.: *Állatorvosi Klinikai Laboratóriumi Diagnosztika*. Sík Kiadó. Budapest. 1999.
55. GE Y.Q., BAGNALL A., STRICKLETT P.K., STRAIT K., WEBB D.J., KOTELEVTSYEV Y., KOHAN D.E.: Collecting duct-specific knockout of the endothelin B receptor causes hypertension and sodium retention. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2006. 291. 1274–1280.
56. GEPTS W., TOUSSAINT D.: Spontaneous diabetes in dogs and cats. A pathological study. *Diabetologia*. 1967. 3. 249–265.
57. GERARD J., LUYCKX A.S., LEFEBVRE P.J.: Improvement of metabolic control in insulin dependent diabetics treated with the alpha-glucosidase inhibitor acarbose for two months. *Diabetologia*. 1981. 21. 446–451.
58. GOLDIN A., BECKMAN J.A., SCHMIDT A.M., CREAGER M.A.: Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*. 2006. 114. 597–605.
59. GREGAN B., JURGENSEN J., PAPSDORF G., FURKERT J., SCHAEFER M., BEYERMANN M., ROSENTHAL W., OKSCHE A.: Ligand dependent differences in the internalization of endothelin A and endothelin B receptor heterodimers. *J. Biol. Chem.* 2004. 279. 27679–27687.
60. GROOTERS A.M., SHERDING R.G., BILLER D.S., JOHNSON S.E.: Hepatic abscesses associated with diabetes mellitus in two dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 1994. 8. 203–206.
61. HADDAD F., HUNT S.A., ROSENTHAL D.N., MURPHY D.J.: Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: Anatomy, physiology, aging, and functional assessment of the right ventricle. Review. *Circulation*. 2008. 11. 1436–48.
62. HALMOS T., JERMENDY GY.: *Diabetes mellitus elmélet és klinikum*. Medicina. Budapest. 2002.

63. HANLY A.M., WINTER D.C.: The role of thrombomodulin in malignancy. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007. 33. 673–679.
64. HAYNES W.G., WEBB D.J.: Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J. Hypertension.* 1998. 16. 1081–1098.
65. HESS R.S., KASS P.H., VAN WINKLE T.J.: Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism and atherosclerosis in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2003. 4. 489–494.
66. HOAR C.: Surgery in the diabetic patient. In: *Clinical Diabetes Mellitus*. Ed: KOZAK G.P. W.B. Saunders. Philadelphia. 1982. pp. 229–241.
67. HORKAY F., SZOKODI I., MERKELY B., SOLTI F., GELLÉR L., KISS P., SELMECI L., HORVÁTH I., KÉKESI V., JUHÁSZ-NAGY A., TÓTH M.: Potential pathophysiologic role of endothelin-1 in canine pericardial fluid. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. 31S. 401–402.
68. HUNTINGTON K., PICARD P.: Increased cardiac and pulmonary ET-1 mRNA expression in canine pacing-induced heart failure. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. 31. 424–426.
69. JAMAL G.A.: Pathogenesis of diabetic neuropathy: The role of the n-6 essential fatty acids and their eicosanoid derivatives. *Diabet. Med.* 1990. 7. 574–579.
70. JAMERSON K.A., SMITH S.D., AMERENA J.V.: Vasoconstriction with norepinephrine causes less forearm insulin resistance than a reflex sympathetic vasoconstriction. *Hypertension.* 1994. 23. 1006–1011.
71. JASPAN J.B.: The Neuropathies of Diabetes. In: *Endocrinology*. Ed: DEGROOT L.J. W.B. Saunders. Philadelphia. 1989. pp. 1475–1511.
72. JENNEY A., PROIETTO J., O'DEA K.: Low-dose acarbose improves glycemic control in NIDDM patients without changes in insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 1993. 16. 499–502.
73. KANEKO J.J., HARVEY J.W., BRUSS M.L.: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. 1997.

74. KATONA É., JUHÁSZ M., VARGA ZS., PARAGH GY., FÜLESDI B., PÁLL D.: A nitrogén-monoxid – endothelin rendszer szerepe és klinikai jelentősége hypertóniában. *Orvosi Hetilap*. 2006. 38. 1819–1824.
75. KELLY L.W., BARDEN C.A.L., TIEDEMAN J.S., HATCHELL D.L.: Alterations in viscosity and filterability of whole blood and blood cell subpopulations in diabetic cats. *Exp. Eye Res.* 1993. 56. 341–347.
76. KETTUNEN R.V., LEPPALUOTO J., JOUNELA A., VOULTEENAHO O.: Plasma N-terminal atrial natriuretic peptide in acute myocardial infarction. *Am. Heart J.* 1994. 127. 1449–1455.
77. KIM D.: Endothelin activation of inwardly rectifying K⁺ current in atrial cells. *Circ. Res.* 1991. 69. 250–255.
78. KIM S., IWAO H.: Molecular and cellular mechanisms of angiotensin II-mediated cardiovascular and renal diseases. *Pharmacol. Rev.* 2000. 52. 11–34.
79. KIRKBY N.S., HADOKÉ P.W.F., BAGNALL A.J., WEBB D.J.: The endothelin system as a therapeutic target in cardiovascular disease: great expectations or bleak house? *British J. Pharmacol.* 2008. 153. 1105–1119.
80. KOMURO I., YAZAKI Y.: Control of cardiac gene expression by mechanical stress. *Annu. Rev. Physiol.* 1993. 55. 55–75.
81. KONO N., KUWIJAMA M., TARUI S.: Alteration of glycolytic intermediate metabolism in erythrocytes during diabetic ketoacidosis and its recovery phase. *Diabetes.* 1981. 30. 346–353.
82. LAKÓ-FUTÓ Z., SZOKODI I., SÁRMÁN B., FÖLDES G., TOKOLA H., ILVES M., LESKINEN H., VUOLTEENAHO O., SKOUMAL R., DECHATEL R., RUSKOAHO H., TÓTH M.: Evidence for functional role of angiotensin II type-2 receptor in the cardiac hypertrophic process in vivo in the rat heart. *Circulation.* 2003.108. 2414–2422.
83. LANCASTER R.L., HAUT R.C., DECAMP C.E.: Changes in the mechanical properties of patellar tendon preparations of spontaneously diabetic dogs under long-term insulin therapy. *J. Biomech.* 1994. 8. 1105–1108.

84. LENHARD J.M., KLIEWER S.A., PAULIK M.A., PLUNKET K.D., LEHMAN J.M., WEIEL J.E.: Effects of troglitazone and metformin on glucose and lipid metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 1997. 54. 801–818.
85. LERMAN A., GIBBONS R.J., RODEHEFFER R.J., BAILEY K.R., MCKINLEY L.J., HEUBLEIN D.M., BURNETT J.C. Jr.: Circulating N-terminal natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction. *Lancet.* 1993. 341. 1105–1109.
86. LIU J., MASUREKAR M.R., VATNER D.E., JYOTHIRMAYI G.N., REGAN T.J., VATNER S.F., MEGGS L.G., MALHOTRA A.: Glycation end-product cross-link breaker reduces collagen and improves cardiac function in aging diabetic heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. 285. 2587–2591.
87. LOWES B.D., GILBERT E.M., ABRAHAM W.T., MINOBE W.A., LARRABEE P., FERGUSON D., WOLFEL E.E., LINDENFELD J., TSVETKOVA T., ROBERTSON A.D., QUAIFFE R.A., BRISTOW M.R.: Myocardial gene expression in dilated cardiomyopathy treated with beta-blocking agents. *N. Eng. J. Med.* 2002. 18. 1357–1365.
88. MAESHIBA Y., KIYOTA Y., YAMASHITA K., YOSHIMURA Y., MOTOHASHI M., TANAYAMA S.: Disposition of the new antidiabetic agent pioglitazone in rats, dogs and monkeys. *Arzneimittelforschung.* 1997. 47. 29–35.
89. MALHOTRA A., REICH D., NAKOUZI A., SANGHI V., EENEN D.L., BUTTRICK P.M.: Experimental diabetes is associated with functional activation of protein kinase C epsilon and phosphorylation of troponin I in the heart, which are prevented by angiotensin II receptor blockade. *Circ. Res.* 1997. 6. 1027–1033.
90. MALEK A., IZUMO S.: Physiological fluid shear stress causes downregulation of endothelin-1 mRNA in bovine aortic endothelium. *Am. J. Physiol.* 1992. 263. 389–396.
91. MANTUR M., KOPER O.: Platelet-derived growth factor – the construction, role and it's receptors. (lengyel nyelven) *Pol. Merkur Lekarski.* 2008. 24. 173–176.

92. MARGULIES K.B., HILDEBRAND F.J.: Increased endothelin in experimental heart failure. *Circulation* 1990. 82. 2226–2230.
93. MASAKI T.: Historical review: Endothelin. *Trends Pharmacol. Sci.* 2004. 25. 219–224.
94. MCMURRAY J.J., RAY S.G., ABDULLAH I.: Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation*. 1992. 85. 1374–1379.
95. MERKELY B., GELLÉR L., TÓTH M., KISS O., KÉKESI V., SOLTÍ F., VECSEY T., HORKAY F., TENCZER J., JUHÁSZ-NAGY A.: Mechanism of endothelin-induced ventricular arrhythmias in dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. 31S. 437–439.
96. MILLER E: Long-term monitoring of the diabetic dog and cat. *Vet. Clin. North Am.* 1995. 25. 571–584.
97. MISSELBROOK N.G.: Peripheral neuropathy in a diabetic bitch. *Vet. Rec.* 1987. 121. 287.
98. MOE G.W.: B-type natriuretic peptide in heart failure. *Curr. Opin. Cardiol.* 2006. 3. 208–214.
99. MOLENAAR P., O'REILLY G., SHARKEY A., KUC R.E., HARDING D.P., PLUMPTON C., GRESHAM G.A., DAVENPORT A.P.: Characterization and localization of endothelin receptor subtypes in the human atrioventricular conducting system and myocardium. *Circ. Res.* 1993. 72. 526–538.
100. MONTI F., BELLAN B.: The clinical picture of diabetic retinopathy in the dog. *Folia Vet. Lat.* 1976. 6. 249–274.
101. MOREAU P., TAKASE H., KUNG C.F.: Blood pressure and vascular effects of ET blockade in chronic nitric oxide-deficient hypertension. *Hypertension*. 1997/b 29. 763–769.
102. MOREAU P., USCIO L.V., SHAW S., TAKASE H.: Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy. *Circulation*. 1997/a. 96. 1593–1597.

103. MOTTE S., MCENTEE K., NAEIJE R.: Endothelin receptor antagonists. *Pharmacol. Ther.* 2006. 110. 386–414.
104. MUNANA K.: Long-term complications of diabetes mellitus, part I.: Retinopathy, nephropathy, neuropathy. *Vet. Clin. North Am.* 1995. 25. 715–730.
105. NATHAN D.M.: Long-term complications of diabetes mellitus. *N. Eng. J. Med.* 1993. 328. 1676–1685.
106. NELSON R.W., COUTO C.G.: *Small Animal Internal Medicine*. Mosby. 2009.
107. PANG S.C., SARDA I.R., WIGLE D.A., ZHOU Z.J., JENNING, D.B., FLYNN T.G.: Plasma clearance and tissue binding of rANP(99–126) and iso rANP(1–45) in the rat. *Regul. Pept.* 1991. 33. 1–9.
108. PIUHOLA J., SZOKODI I., KINNUNEN P., ILVES M., DECHATEL R., VUOLTEENAHO O., RUSKOAHO H.: Endothelin-1 contributes to the Frank–Starling response in hypertrophic rat hearts. *Hypertension*. 2003. 41. 93–98.
109. POGÁTSA G.: Új szempontok a diabeteses cardiopathia kezelésében. *Orv. Hetil.* 1997. 138. 1491–1494.
110. POGÁTSA G.: A szívizomanyagcsere sajátosságai cukorbetegségben. *Card. Hung.* 2000. 29. 73–80.
111. PÖNICKE K., VOGELSANG M., HEINROTH M.: Endothelin receptors in the failing and nonfailing human heart. *Circulation*. 1998. 97. 74–51.
112. RIBATTI D.: The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: a historical review. *Br. J. Haematol.* 2005. 128. 303–309.
113. RIOS M.S.: Acarbose and insulin therapy in type I diabetes mellitus. *Eur. J. Clin. Invest.* 1994. 24. 36–39.
114. ROBERTSON J., NELSON R., KASS P., NEAL L.: Effects of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose on postprandial serum glucose and insulin concentrations in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1999. 60. 541–545.

115. RODEHEFFER R.J., LERMAN A.: Increased plasma concentrations of endothelin in congestive heart failure in humans. *Mayo Clin. Proc.* 1992. 89. 1580–1586.
116. RUSKOAHO H.: Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocr. Rev.* 2003. 24. 341–356.
117. RUSKOAHO H., LESKINEN H., MAGGA J., TASKINEN P., MANTYMAA P., VOULTEENAHO O., LEPPALUOTO J.: Mechanisms of mechanical load-induced atrial natriuretic peptide secretion: role of endothelin, nitric oxide, and angiotensin II. *J. Mol. Med.* 1997. 75. 876–885.
118. SADOSHIMA J., XU Y., SLAYTER H.S., IZUMO S.: Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell.* 1993. 75. 977–984.
119. SAKAI S., MAYAUCHI T.: Endogenous ET-1 participates in the maintenance of cardiac function in rats with congestive heart failure. *Circulation.* 1996. 93. 1214–1222.
120. SAKAI S., YORIKANE R., MIYAUCHI T.: Altered production of endothelin-1 in the hypertrophied rat heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995. 26S. 452–455.
121. SÁRMÁN B., SKOUMAL R., LESKINEN H., RYSA J., ILVES M., SOINI Y., TUUKKANEN J., PIKKARAINEN S., LAKÓ-FUTÓ Z., SÁRMÁN B., PAPP L., DECHATEL R., TÓTH M., RUSKOAHO H., SZOKODI I.: Nuclear factor κ B signaling contributes to severe, but not moderate, angiotensin II-induced left ventricular remodelling. *J. Hypertension.* 2007. 25. 1927–1939.
122. SCHELLENBERG S., GRENACHER B., KAUFMANN K., REUSCH C.E., GLAUS T.M.: Analytical validation of commercial immunoassays for the measurement of cardiovascular peptides in the dog. *Vet. J.* 2008. 1. 85–90.
123. SCHNEIDER M.P., BOESEN E.I., POLLOCK D.M.: Contrasting actions of endothelin ETA and ETB receptors in cardiovascular disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007. 47. 731–759.

124. SHAREFKI J.B., DIAMOND S.L., ESKIN S.G., MCINTIRE L.V., FENBACH C.W.: Fluid flow decreases preproendothelin mRNA levels and suppresses endothelin-1 peptide release in cultured human endothelial cells. *J. Vasc. Surg.* 1991. 14. 1–9.
125. SHIBA R., YANAGISHAWA M., MIYAUCHI T.: Elimination of intravenously injected endothelin-1 from the circulation in the rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1989. 13S. 98–101.
126. SMITH M.W., ESPINER E.A., YANDLE T.G., CHARLES C.J., RICHARDS A.M.: Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase. *J. Endocrinol.* 2000. 167. 239–246.
127. SOTTIAUX J.: Atherosclerosis in a dog with diabetes mellitus. *J. Small. Anim. Pract.* 1999. 40. 581–584.
128. STEISS J.E., ORSHER A.N., BOWEN J.M.: Electrodiagnostic analysis of peripheral neuropathy in dogs with diabetes mellitus. *Am. J. Vet. Res.* 1981. 42. 2061–2064.
129. STEVENS T., ROSENBERG R., AIRD W., QUERTERMOUS T., JOHNSON F., GARCIA J.G.N., HEBBEL R.P., TUDER R.M., GARFINKEL S.: NHLBI Workshop report: endothelial cell phenotypes in heart, lung, and blood diseases. *Am. J. Physiol.* 2001. 281. 1422–1433.
130. STOUT R.W., BIERMAN E.L., ROSS R.: Effect of insulin on the proliferation of cultured primate arterial smooth muscle cells. *Circ. Res.* 1975. 36. 319–327.
131. STOUT R.W.: Insulin as a mitogenic factor: role in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am. J. Med.* 1991. 90. 62–65.
132. STUMVOLL M., NURJHAN N., PERRIELLO G.: Metabolic effects of metformin in non-insulin dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1995. 333. 550–554.
133. SUDOH T., KANGAWA K., MINAMINO N., MATSUO H.: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature.* 1988. 332. 78–81.

134. SUGA S., NAKAO K., ITOH H., KOMATSU Y., OGAWA Y., HAMA N., IMURA H.: Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor beta, possible existence of „vascular natriuretic peptide system”. *J. Clin. Invest.* 1992. 90. 1145–1149.
135. SUMPIO B.E., WIDMANN M.D.: Enhanced production of endothelium-derived contracting factor by endothelial cells subjected to pulsatile stretch. *Surgery.* 1990. 108. 277–281.
136. SZOKODI I., HORKAY F., KISS P., SELMECI L., HORVÁTH I., VOULTEENAHO O., RUSKOAHO H., JUHÁSZ-NAGY A., TÓTH M.: Characterization of canine pericardial fluid endothelin-1 levels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. 31S. 399–400.
137. SZOKODI I., HORKAY F., MERKELY B., SOLTI F., GELLÉR L., KISS P., SELMECI L., KÉKESI V., VOULTEENAHO O., RUSKOAHO H., JUHÁSZ-NAGY A., TÓTH M.: Intrapericardial infusion of endothelin-1 induces ventricular arrhythmias in dogs. *Cardiovasc. Res.* 1997. 38. 356–364.
138. TAKAHASHI T., MATSUSHITA Y., IIJIMA Y., TANZAWA K.: Purification and characterization of endothelin-converting enzyme from rat lung. *J. Biol. Chem* 1993. 268. 21394–21398.
139. TONNESSEN T., CHRISTENSEN G.: Increased cardiac expression of ET-1 mRNA in ischaemic heart failure in rats. *Cardiovasc. Res.* 1997. 33. 601–610.
140. TÓTH M., SOLTI F., MERKELY B., KÉKESI V., HORKAY F., SZOKODI I., JUHÁSZ-NAGY A.: Ventricular tachycardias induced by intracoronary administration of endothelin-1 in dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995. 26S. 153–155.
141. TURNER R.C., CULL C.A., FRIGHI V., HOMAN R.R.: The UK prospective Diabetes Study Group. *J. Am. Med. Assoc.* 1999. 281. 2005–2012.
142. USCIO L.V., MOREAU P., SHAW S.: Effects of chronic ETA-receptor blockade in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension.* 1997. 29. 435–441.

143. VALERIUS N.H., EFF C., HANSEN N.E., KARLE H., NERUP J., SOEBERG B., SORENSEN S.F.: Neutrophil and lymphocyte function in patients with diabetes mellitus. *Acta Med. Scand.* 1982. 211. 463–467.
144. VERHAAR M.C., STRACHAN F.E., NEWBY D.E., CRUDEN N.L., KOOMANS H.A., RABELINK T.J., WEBB D.J.: Endothelin A receptor antagonist-mediated vasodilatation is attenuated by inhibition of nitric oxide synthesis and by endothelin B receptor blockade. *Circulation.* 1998. 97. 752–756.
145. WAINWRIGHT C.L., MCCABE C., KANE K.A.: Endothelin and the ischaemic heart. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2005. 4. 333–341.
146. WATALA C., WITAS H., OLSZOWSKA L., PIASECKI W.: The association between erythrocyte internal viscosity, protein non-enzymatic glycosylation and erythrocyte membrane dynamic properties in juvenile diabetes mellitus. *Int. J. Exp. Pathol.* 1992. 73. 655–663.
147. WNUCZKO K., SZCZEPANSKI M.: Endothelium – characteristics and functions. (Lengyel nyelven) *Pol. Merkur Lekarski.* 2007. 23. 60–65.
148. WU S.Q., HOPFNER R.L., MCNEILL J.R., WILSON T.W., GOPALAKRISHNAN V.: Altered paracrine effect of endothelin in blood vessels of the hyperinsulinemic, insulin resistant obese Zucker rat. *Cardiovasc. Res.* 2000. 4. 994–1000.
149. YAMAZAKI T., KOMURO I., KUDOH S., SOU Y., SHIOJIMA I., HIROI Y., MIZUO T., MAEMURA K., KURIHARA H., AIKAWA R., TAKANO H., YAZAKI Y.: Endothelin-1 is involved in mechanical stress induced cardiomyocyte hypertrophy. *J. Biol. Chem.* 1996. 271. 3221–3228.
150. YAMAZAKI T., KOMURO I., YAZAKI Y.: Molecular mechanism of cardiac cellular hypertrophy by mechanical stress. *J Mol. Cell. Cardiol.* 1995. 27. 133–140.
151. YANAGISHAWA M., KURIHARA H., KIMURA S., TOMOBE Y., KOBAYASHI M., MITSUI Y., YAZAKI Y., GOTO K., MASAKI T.: A novel potent

vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988. 332. 411–415.

152. YORIKANE R., KOKIE H., MIYAKE S.: Electrophysiological effect of endothelin-1 on canine myocardial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1991. 17. 159–162.

11. Publikációk

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

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

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

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

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

12. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőm, Semjén Gábor professzor úr kitartó segítségét a dolgozat elkészítésében, enélkül a PhD értekezés nem jöhetett volna létre.

Köszönettel tartozom Vörös Károly tanszékvezető egyetemi tanár úrnak, hogy a tanszék valamennyi dolgozóját terhelő klinikai munka mellett lehetőséget biztosított számomra kutatási munka végzésére és támogatta tudományos törekvéseimet.

A munka egy részének kísérletes kivitelezésére a Semmelweis Egyetem nagyállat kísérletes laborja adott lehetőséget. Köszönöm ezért a pótolhatatlan segítséget a labor vezetőjének, Tóth Miklósnak, továbbá Bedőcs Péter, Seres Leila és Kocsis Erzsébet kutatóknak. A kísérletek gyakorlati kivitelezésében a laborasszisztensek, Szendrei Eszter, Patikás Attiláné, Okeke Gabriella, Faragó Zsolt és Farkas Istvánné voltak segítségemre.

A laboratóriumi meghatározásokban egyetemünk Gyógyszertani Tanszékének dolgozói, Móra Zsuzsa és Misley Attiláné támogatták munkámat.

A statisztikai számításokban Abonyi-Tóth Zsolt volt a segítségemre.

A dolgozat külalakja Szabó Béla érdeme.

Hálás köszönetemet szeretném ezúton is kifejezni feléjük.