A ghrelin kardiovaszkuláris hatásai

Doktori tézisek

Dr. Sax Balázs

Semmelweis Egyetem
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Kékesi Violetta egyetemi docens, Ph.D.

Hivatalos bírálók:
Dr. Végh Ágnes egyetemi tanár, D.Sc.
Dr. Tóth-Heyn Péter egyetemi adjunktus, Ph.D.
Szigorlati bizottság elnöke:
Dr. de Châtel Rudolf egyetemi tanár, D.Sc.
Szigorlati bizottság tagjai:
Dr. Szokodi István egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Palik Éva egyetemi adjunktus, Ph.D.

Budapest
2013

1 BEVEZETÉS

A szív fiziológiás és kóros működését mai ismereteink szerint számos, a miokardiumban (is) képződő peptid befolyásolja. Ezek legismertebb képviselői a nátriuretikus peptidek, az endothelin és az angiotenzin. Ugyanakkor a közelmúltban több, elsősorban más szervekben termelődő peptid hormonról bizonyosodott be, hogy potenciálisan jelentős kardiovaszkuláris hatással bír – ilyenek például a relaxin és a ghrelin is.

Többirányú vizsgálatainkban a gasztrointesztinális hormonként számon tartott ghrelin szív- és érrendszeri szabályozásban betöltött szerepével foglalkoztunk. A ghrelin a növekedési hormon elválasztását serkentő receptor (GHS-R) endogén ligandja. Főként a gyomor nyálkahártya oxintikus mirigysejtjei termelik, de más szövetekben, így a szívizomban és az érfalban is termelődik. A keringő ghrelin acilált (aktív) és dezacilált (inaktív) formában van jelen. A humán szívizomsejtek a ghrelint, a ghrelin receptor mindkét altípusát és az acilálást végző a ghrelin-O-aciltranszferáz (GOAT) enzimet is expresszálják, ami megteremti a szívizomban egy önálló, parakrin módon ható ghrelin rendszer működésének lehetőségét.

A receptor két altípusa közül a GHS-R1a egy G-fehérjéhez kapcsolt, hét transzmembrán doménnel rendelkező receptor, amely a ghrelin legtöbb biológiai hatását közvetíti. A másik altípus (GHS-R1b) fiziológiai jelentősége ez idáig tisztázott.

A ghrelin növekedésre gyakorolt és metabolikus hatásai

A ghrelin elsőként felfedezett hatása a növekedési hormon elválasztás fokozása volt. A peptid ugyanakkor számos szövetben – szívizomsejteken is – direkt proliferatív hatást fejt ki.

A ghrelin igen potens orexigén peptid, fokozza a táplálékfelvételt, a gyomorsav szekréciót és a gyomor-bélrendszer motilitását. Plazma-szintje étkezés előtt magas, táplálékbevitel után csökken. A ghrelin szint negatív korrelációt mutat a testtömeg-indexszel, ami negatív visszacsatolásos szabályozásra utal. Terápiás felhasználásának egyik iránya éppen az orexigén hatás kihasználása lehet daganatos

betegeknél vagy cachexiával járó szívelégtelenségben. A ghrelin kétirányú kölcsönhatásban áll a szénhidrát-háztartással: emeli a vércukorszintet, stimulálja a glukagon- és csökkenti az inzulinszekréciót. Ugyanakkor – egészséges önkéntesekben – az intravénásan adott inzulin csökkenti a ghrelin plazmakoncentrációját.

A ghrelin ép keringésre gyakorolt hatásai

A ghrelin széleskörű kardiovaszkuláris hatásokkal rendelkezik. Egészséges egyénekben csökkenti a szisztémás vérnyomást, növeli a pulzustérfogatot és a szívindexet, míg a szívfrekvenciát nem befolyásolja. A vérnyomást csökkentő hatás részben központi idegrendszeri mechanizmusokon, a nucleus tractus solitariin keresztül, illetve a bolygóideg közvetítésével jön létre.

A ghrelin ischaemiás szívbetegségben

A ghrelin ischaemiás szívbetegségben kardioprotektív hatással is bír: kísérletes vizsgálatokban mérsékli az ejekciós frakció posztinfarktusos romlását, gyulladást és szimpatikus aktivitást csökkentő effektusa gátolja a korai szívizom-átépülést, csökkenti a posztinfarktusos apoptózist, nekrózist és összességében a mortalitást. Kardiomiocita sejtvonalon serkenti a proliferációt, mikroér-endotélsejteken pedig a proliferációt és migrációt, ezáltal az angiogenezist. Humán vizsgálatok szerint az alacsonyabb ghrelin plazmaszint magasabb kardiovaszkuláris kockázattal járhat együtt.

A ghrelin szívelégtelenségben

Szívelégtelenség patkánymodelljében a ghrelinnel történő kezelés növeli a bal kamrai kontraktilitást, a szívindexet, és javítja a kardiális cachexiát. Szívelégtelen betegekben bólus ghrelin adása a csökkenti a vérnyomást, emeli a szívindexet és a pulzustérfogatot. A krónikus ghrelin-kezelés is csökkenti a szimpatikus aktivitást, növeli az ejekciós frakciót és a bal kamrai izomtömeget, csökkenti a bal kamrai tágulatot, javítja az izomerőt. Kimutatták, hogy terminális szívelégtelenségben a keringő ghrelin szintje megemelkedik, majd transzplantációt követően normalizálódik. Ugyanakkor recipiensek

szívéből vett mintákban alacsony ghrelin- és (kompenzatórikusan) megnövekedett GHS-R1a expressziót írtak le.

A ghrelin direkt érhatásai

A ghrelin közvetlen érhatása többirányú, fajonként és érterületenként is különbözik. Relaxáló hatását írták le *in vivo* humán felső végtagi artérián és *in vitro* izolált artéria mammaria gyűrűn. Ugyancsak értágító hatású prekontrahált patkány mezenteriális érpályában. Ugyanakkor *in situ* sertésszíven ghrelin hatására a koronária véráramlás csökkenését, izolált, perfundált patkányszíven és koronária arteriolákon az érellenállás növekedését írták le. A patkánnyal szemben humán mezenteriális arteriolákon a ghrelin tónusfüggő konstriktor hatású, tengerimalac vese arteriolán, illetve ér-simaizomsejteken szintén kontrakciót okoz.

A perikardiális fluidum

A szívizomsejtek közvetlen mikrokörnyezetében, a szívizom interstíciumának homeosztázisában történő változások *in vivo* követésére kevés módszer létezik, különösen humán alanyoknál. Az interstícium vizsgálata révén egyes biológiai ágensek miokardiális képződése, leadódása, metabolizmusa követhető. A perikardiális fluidum (PF), mely eredetét tekintve főként miokardiális transzszudátum, az interstíciális folyadékkal folyamatos anyag-kicserélődésben áll, így tükrözheti a szívszöveti viszonyokat. A PF számos endogén regulátort (pl. adenin nukleozidokat, nátriuretikus peptideket, növekedési faktorokat) a plazmáénál jóval nagyobb koncentrációban tartalmaz, ami ezek miokardiális leadódására utal. Kimutatták, hogy ugyanezen ágensek perikardiálisan mérhető szintje ischaemiás szívbetegségben a normálishoz képest tovább emelkedik.

Szívbeni képződése, kardiovaszkuláris és kardioprotektív hatásai ellenére a ghrelin perikardiális előfordulását ez idáig nem vizsgálták. A fenti adatok értelmében a PF ghrelin koncentrációja a szisztémás plazmaszintnél jobb becslést adhat a peptid miokardiális koncentrációjáról és annak egyes kórállapotokban való változásáról.

2 CÉLKITŰZÉS

Munkám középpontjában a ghrelin kardiovaszkuláris szabályozásban betöltött szerepe állt: vizsgálni kívántam a peptid lokális és szisztémás szintjének változását ischaemiás szívbetegségben és szívelégtelenségben, valamint a ghrelin direkt koronária hatását, illetve annak receptorfüggését.

A ghrelin kardioprotektív hatásainak ismeretében feltételeztük, hogy ischaemiás szívbetegségben a peptid lokális szöveti koncentrációja megváltozhat. Mivel a miokardiális koncentráció direkt mérése krónikus szívizom-ischaemiában szenvedő betegekben nem lehetséges, célul tűztük ki szívműtétre kerülő ischaemiás szívbetegek és kontrollként billentyűbetegek perikardiális folyadékában és szisztémás vérplazmájában az aktív (acilált) és össz-ghrelin koncentráció mérését. Vizsgáltuk a ghrelinszintek, valamint a funkcionális és morfológiai szívparaméterek, antropometriai adatok és metabolikus paraméterek közötti korrelációt.

A bevezetőben vázolt irodalmi adatok alapján a ghrelin direkt érhatása nem tisztázott. Tekintettel az egymásnak ellentmondó, részben hiányos irodalmi adatokra, vizsgálni kívántuk a ghrelin receptorok (GHS-R1a és GHS-R1b) jelenlétét a koronária rendszerben és a szívizomban, valamint tisztázni kívántuk a ghrelin intramurális koronária rezisztenciaerek kontraktilis státuszára kifejtett hatását és ezen hatás receptoriális mechanizmusát emlős szívből izolált ereken.

A ghrelinkoncentráció szívelégtelenség kialakulása során bekövetkező változásának tanulmányozásához célunk volt egy megbízható, jól reprodukálható nagyállatmodell beállítása. A modellben vizsgálni kívántuk a plazma ghrelin és (kontrollként) a proANP koncentráció változását, valamint ezek korrelációját a szívelégtelenség kialakulását jellemző echokardiográfiás paraméterekkel.

3 MÓDSZEREK

3.1 Humán perikardiális vizsgálat

3.1.1. Betegcsoportok

- szívbetegség miatt nyitott szívműtétre kerülő betegek:
    - elektív koronária bypass (ISCH, n=54)
    - billentyű implantáció (kontroll csoport negatív koronarogrammal; VHD, n=41)
- kizárási kritérium: akut szívinfarktus, gyulladásos vagy tumoros betegség, vese- vagy májbetegség
- a demográfiai adatok közül az életkor (ISCH vs. VHD: 63 vs. 66 év) és a BMI (28 vs. 27 kg/m^2) nem különbözött
- a csoportok között a férfi nem aránya (ISCH vs. VHD: 80 vs. 37%), a magasvérnyomás-betegség előfordulása (87 vs. 14 %), illetve a cukorbetegség előfordulása (33 vs. 10%) szignifikánsan különbözött ($p<0,05$)

3.1.2 Mintavétel, biokémiai és echokardiográfiás mérések

- intraoperatív perikardiális folyadék és vénás vér mintavétel
- mintakezelés: EDTA és aprotinin
- centrifugálás, tárolás - 80°C-on a mérésig
- aktív (acilált) ghrelin és össz-ghrelin (acilált + dezacilált) meghatározás (RIA), plazma inzulin mérés (ELISA), lipid, glükóz és további standard laboratóriumi paraméterek mérése
- echokardiográfiás paraméterek mérése: bal kamrai végdiasztolés (LVEDD) és végszisztolés (LVESD) átmérő, szeptumvastagság (SWT) és hátsó falvastagság (PWT), tricuspidalis billentyű síkjának systolés kitérése (TAPSE) és bal kamrai ejekciós frakció (EF)
- HOMA-A inzulin rezisztencia index, bal kamrai izomtömeg számítása a fenti paraméterekből

3.2 In vitro kutya koronária vizsgálatok

3.2.1 Immunhisztokémia

- kutya szívizomminták (fixálás: formalin 4%; paraffinálás)
- anti-humán GHS-R1a és 1b receptor antitestek validálása kutya szívizommintán Western blot technikával
- ghrelin receptor kimutatása (immunhisztokémia) validált humán antitestekkel a kutya szívizom-mintákon
    - pozitív kontroll: kutya hypothalamus neuronok
    - negatív kontroll: elsődleges antitest kihagyása

3.2.2 Izolált kutya koronária arteriolák

- intramurális koronária arteriola izolálás egészséges kutyaszívből (n=20; belső átmérő: 219±18 μm)
- ér kanülálása mindkét végén (sztereomikroszkóp)
- 50 Hgmm-es intraluminális nyomás fenntartása (szervopumpák)
- inkubáció: normál Krebs-Ringer oldat (KR) szervfürdő (pH7,4; 37°C; buborékoltatás: 5%CO2, 20%O2, 75%N2 gázelegy)
- érátmérő-változás mérése (videomikroszkóp)
- endotélfunkció tesztelése (10 μM acetilkolin)

3.2.3 Protokoll

- első sorozat (n=6-12):
    - ghrelin dózis-hatás összefüggések felvétele spontán értónus mellett (1-3-10-30-100-300 nM ghrelin koncentrációjú Krebs-Ringer szervfürdők)
    - ghrelin dózis-hatás összefüggések felvétele prekontrahált (tromboxán analóg U46619, 10^{-7} – 10^{-6} M) arteriolákon
- második sorozat (n=8):
    - ghrelin hatásvizsgálat (30-100-300 nM ghrelin koncentrációjú KR szervfürdők) prekontrahált ereken GHS-R1a blokád (50 μm D-Lys3-GHRP-6) előtt és alatt

3.3 Szívelégtelenség in vivo nagyállat-modellje

3.3.1 A modell beállítása

- pacemaker (PM) beültetés, két jobb kamrai elektród, DDD üzemmód (kutya, n=13)
- 120/min rátájú szívingerlés, 250 ms AV-idő -> 240/min szívfrekvencia
- súlyos szívelégtelenség (orthopnoe, ascites, étvágytalanság, kisvérköri pangás; humán NYHA IV-nek megfeleltethető állapot) átlagosan 22±4 nap után alakult ki
- hetente echokardiográfiás kontroll kikapcsolt PM mellett: szívüregi átmérők, falvastagságok, mitralis és tricuspidalis regurgitáció, bal kamrai ejekciós frakció, TAPSE
- hetente vérvétel, a szívelégtelenség tüneteinek értékelése

3.3.3 Biokémiai mérések

- vénás vérminták: EDTA+aprotinin, -80°C-on tárolás
- plazma acilált (aktív) ghrelin és proANP mérések (ELISA)
- rutin laboratóriumi vizsgálatok (vérkép, ionok, vesefunkció, májfunkció, bilirubin)

3.4 Statisztikai analízis

- adatok: átlag±S.E.M.
- normalitás vizsgálat: Shapiro-Wilk teszt
- humán vizsgálatok:
  - Mann-Whitney U, Wilcoxon, Spearman próbák
  - Fisher-féle egzakt teszt
- izolált arteriola vizsgálatok:
  - Student-féle párosított *t*-teszt
- szívelégtelenség nagyállat-modell:
  - Student-féle párosított *t*-teszt
  - Pearson-korreláció
- szignifikancia szint: $p<0,05$

4 EREDMÉNYEK

4.1 Humán perikardiális vizsgálat eredményei

4.1.1 Metabolikus és echokardiográfiás paraméterek

A két betegcsoport metabolikus paramétereit összehasonlítva az ischaemiás szívbetegek szérum össz-koleszterinszintje szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult (ISCH vs. VHD: 4,4±0,2 vs. 5,1±0,2; $p<0,05$), ami összefüggget azzal, hogy az ischaemiás csoportban szignifikánsan több beteg részesült sztatin terápiában (35/54 vs. 16/41, $p<0,05$). A szérum trigliceridszint és szénhidrátháztartás paraméterei (plazma glükóz- és inzulinszint, illetve az inzulin-rezisztenciát jelző HOMA-A paraméter) nem mutatott különbséget a két csoportban.

Az echokardiográfiás paraméterek tekintetében az ischaemiás betegcsoportban mérsékelten, de szignifikánsan alacsonyabb ejekciós frakciót (55±1 vs. 62±1; $p<0,01$) és nagyobb végszisztolés átmérőt (36±1 vs. 32±1; $p<0,01$) találtunk a billentyűbetegekhez képest. Nem találtunk szignifikáns különbséget a bal kamrai izomtömegben és falvastagságban, valamint a jobb kamrai morfológiai és funkcionális paraméterekben sem.

4.1.2 Perikardiális és plazma ghrelin koncentráció

Az ischaemiás szívbeteg csoportban a perikardiális aktív (acilált) ghrelin koncentráció szignifikánsan magasabb volt, kétszerese a billentyűbeteg csoportban mérhetőnek (1. táblázat). A plazma ghrelin koncentrációkban ugyanakkor nem mutatkozott szignifikáns különbség a betegcsoportok között sem az aktív, sem az össz-ghrelin tekintetében. Mind a perikardiális, mind a plazmában mért aktív ghrelin koncentrációja több mint egy nagyságrenddel alacsonyabb volt az össz-ghrelin koncentrációhoz képest mindkét csoportban. A billentyűbeteg csoportban a perikardiális aktív és össz-ghrelin szint is szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a plazmában mért koncentrációhoz képest, míg az ischaemiás csoportban ilyen különbséget nem láttunk.

Az adatok felhívják a figyelmet arra, hogy ez egyúttal relatív perikardiális aktív és össz-ghrelin többletet jelent ischaemiás szívbetegek esetén. Az utóbbi értékelésére számított perikardiális-plazma arány az ischaemiás csoportban mind az aktív, mind az össz-ghrelin tekintetében szignifikánsan magasabbnak bizonyult a billentyűbeteg csoport értékeihez képest (ISCH vs. VHD, aktív ghrelin: 0,85±0,03 vs. 0,44±0,07, p<0,01; össz-ghrelin: 0,97±0,05 vs. 0,88±0,03 p<0,01).

Ghrelin koncentráció (pg/ml, átlag±SEM)		ISCH (n=54)	VHD (n=41)
Acilált ghrelin	plazma	39±3	41±4**
	perikardiális fluidum	32±3 ##	16±2
Össz-ghrelin	plazma	683±24	701±39**
	perikardiális fluidum	668±29	600±38

1. TÁBLÁZAT *Az ischaemiás (ISCH) és billentyűbeteg (VHD) csoport plazmában és perikardiális fluidumban mért acilált (aktív) és össz-ghrelin koncentrációjának összehasonlítása. Átlag±S.E.M, **p<0,01 plazma vs. perikardiális fluidum a betegcsoporton belül (Wilcoxon teszt); ## p<0,01 ischaemiás vs. billentyűbetegek (Mann-Whitney teszt)*

4.1.3 A ghrelinkoncentrációk korrelációja metabolikus és echokardiográfiás paraméterekkel

Szignifikáns negatív korreláció mutatkozott a plazma össz-ghrelin és testtömeg-index között (2. táblázat). A plazma inzulin koncentráció és a HOMA-A index negatív korrelációt mutatott mind a plazma, mind a perikardiális össz-ghrelinnel, és a perikardiális aktív ghrelin koncentrációval is.

A perikardiális aktív és össz-ghrelin koncentráció szignifikáns negatív korrelációt mutatott a bal kamrai hátsó fal vastagsággal. A falvastagságokat és a bal kamrai végdiasztolés átmérőt magába foglaló képlet alkalmazásával számított bal kamrai izomtömeg negatív korrelációt mutatott a plazma össz-ghrelin koncentrációval. A bal kamrai ejekciós frakció és átmérők, valamint a jobb kamrai paraméterek nem mutattak összefüggést sem a perikardiális, sem a plazma ghrelinszintekkel.

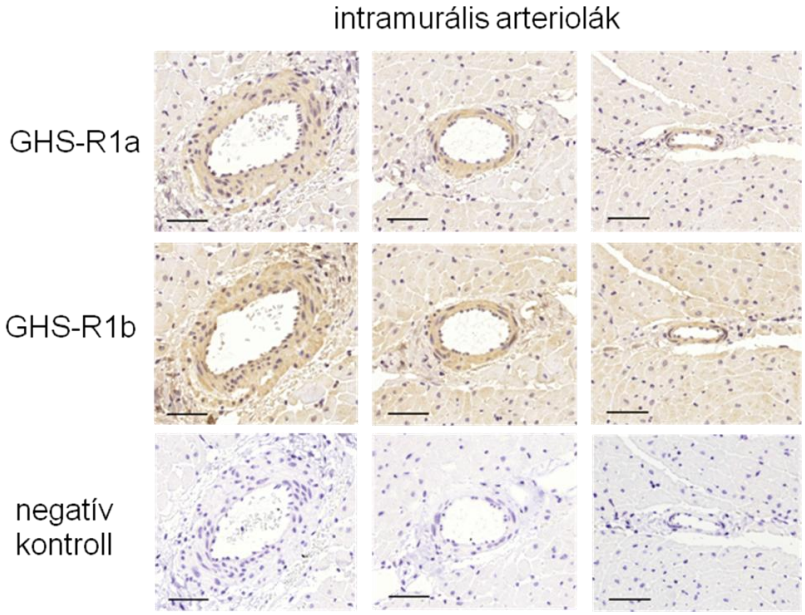
Összes beteg (n=95)		BMI	plazma inzulin	HOMA-A index	PWT	LVM
Plazma acilált ghrelin	R	-0,159	-0,192	-0,192	-0,252	-0,119
	p	0,128	0,071	0,071	0,060	0,381
Perikardiális acilált ghrelin	R	0,000	**-0,223**	**-0,233**	**-0,306**	-0,146
	p	0,997	**0,047**	**0,038**	**0,032**	0,316
Plazma össz-ghrelin	R	**-0,223**	**-0,288**	**-0,326**	-0,243	**-0,275**
	p	**0,030**	**0,006**	**0,002**	0,069	**0,038**
Perikardiális össz-ghrelin	R	0,003	**-0,371**	**-0,395**	**-0,354**	-0,249
	p	0,973	**0,000**	**0,000**	**0,007**	0,061

2. TÁBLÁZAT *A ghrelin koncentrációk korrelációja metabolikus és echokardiográfiás paraméterekkel a betegpopuláció egészében.. A félkövér kiemelés a szignifikáns összefüggéseket jelzi. (R: Spearman korrelációs együttható; p: a szignifikancia szintje; BMI: testtömeg-index; PWT: hátsó fal vastagság; LVM: bal kamrai izomtömeg)*

4.2 In vitro kutya koronária vizsgálatok eredményei

4.2.1 Immunhisztokémia

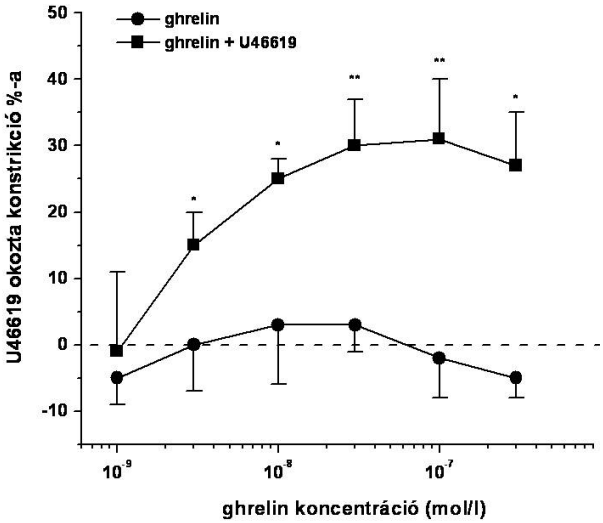
A kutya bal kamrai szívizom-metszetek GHS-R1a festődését az 1. ábra felső sora mutatja. A metszeteken a szívizom enyhe GHS-R1a immunpozitivitást mutat. A különböző átmérőjű intramurális artériák falában kifejezett GHS-R1a immunpozitivitás észlelhető. A metszetek GHS-R1b immunfestését az ábra középső sora mutatja. A miokardiális GHS-R1b immunpozitivitás az 1a receptor altípusénál kifejezettebbnek bizonyult. A GHS-R1a-hoz hasonlóan az 1b receptor is jelentős immunpozitivitást mutat az arteriolák falában.



1. ÁBRA *Mindkét ghrelin receptor altípus jelentős immunpozitivitást mutat a kutyaszívek különböző átmérőjű intramurális koronáriáinak falában, szomszédos metszeteken. A miokardiális immunpozitivitás erőteljesebb GHS-R1b esetén. Negatív kontroll: elsődleges antitest kihagyása. A vonalak 50 μm-t jelölnek.*

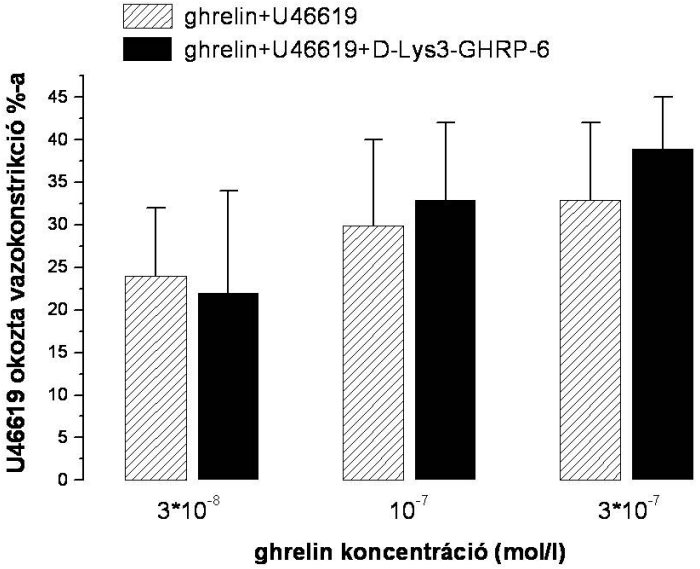
4.2.2 Izolált kutya koronária arteriolák

Az izolált és kanülált arteriolák belső átmérőjének átlaga 219±18 μm volt 50 Hgmm-es intraluminális nyomáson. A ghrelin önmagában nem okozott szignifikáns átmérőváltozást spontán tónusú ereken. Ugyanakkor thromboxán-analóggal (U46619) való tónus-emelést követően a ghrelin az arteriolák dózisfüggő konstrikcióját idézte elő. Az U46619 önmagában 25±2% átmérőcsökkenést hozott létre (n=20; p<0,01), a ghrelin 3-100 nmol/l koncentráció-tartományon belül az U46619 hatásához képest a hatás csúcsán további 31±9% konstrikciót okozott (2. ábra).



2. ÁBRA *Ghrelin által kiváltott érátmérő-változások kutya koronária arteriolán spontán és megemelt értónus (U46619) mellett. A ghrelin által kiváltott konstrikció az U46619 [10^{-7}-10^{-6} mol/l] által kiváltott átmérőcsökkenés százalékában ábrázolva. (átlag±S.E.M, *p<0,05, **p<0,01 megemelt vs. spontán értónus; n=6: 1-10 nmol/l és n=9-12: 30-300 nmol/l)*

További kísérletekben a GHS-1a receptor specifikus antagonistájával (50 μmol/L D-Lys^3-GHRP-6) kiváltott blokád nem gátolta a ghrelin által létrehozott vazokonstrikciót prekontrahált koronária arteriolákon. A 3. ábrán látható, hogy gyakorlatilag nem volt különbség a 30-300 nM ghrelin által kiváltott konstrikciók mértékében GHS-R1a blokád hatására.



3. ÁBRA *A GHS-R1a antagonista D-Lys^3-GHRP-6 (50 μmol/l) hatása a ghrelin által kiváltott vazokonstrikcióra megemelt tónusú kutya koronária arteriolákon (U46619, 10^{-7}-10^{-6} mol/l). A ghrelin által kiváltott konstrikció a thromboxán analóg U46619 (10^{-7}-10^{-6} mol/l) által kiváltott átmérőcsökkenés százalékában ábrázolva. (átlag±S.E.M, n=8, n.s.)*

4.3 Szívelégtelenség nagyállat-modelljének eredményei

4.3.1 Echokardiográfiás és laboratóriumi paraméterek változása a szívelégtelenség kialakulása során

A tartós magas frekvenciájú (240/min) jobb kamrai ingerlés mellett a kutyákban a humán NYHA IV stádiumnak megfeleltethető súlyos szívelégtelenség 22±4 nap alatt alakult ki. Ennek során az ejekciós frakció szignifikáns csökkenése, a mitrális regurgitáció, a bal kamrai végdiasztolés és végszisztolés átmérő növekedése, valamint enyhe fokú jobb kamrai tágulat kialakulása volt észlelhető az ingerlést megelőző (kontroll) állapotoz képest. A vesefunkció szintén szignifikáns romlást mutatott a szívelégtelenség kialakulása során (3. táblázat).

	kontroll	súlyos szívelégtelenség
EF (%)	62±3	22±3 **
LVEDD (mm)	37±1	44±1 **
LVESD (mm)	25±1	37±1 **
MI foka	0,1±0,1	2,8±0,2 **
RV (mm)	20±1	26±2 **
kreatinin (μM)	62±4	79±6 *
urea (mM)	2,6±0,3	5,9±0,3 *

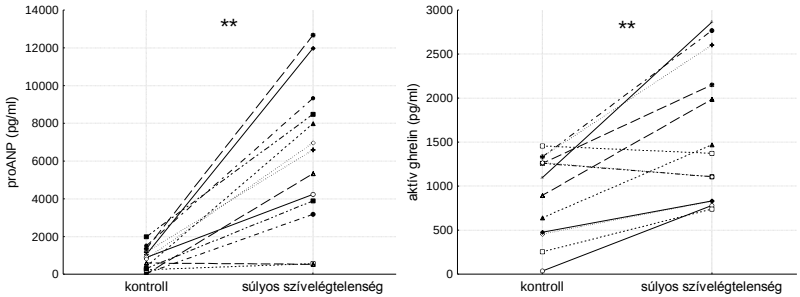
3. TÁBLÁZAT *Echokardiográfiás paraméterek és a vesefunkció változása a szívelégtelenség gyors kamrai ingerléssel kiváltott kutya modelljében. (átlag±SEM, *p<0,05 és **p<0,01 vs. kontroll; t-teszt, n=13).*

4.3.2 A ghrelin és proANP koncentrációjának változása

A proANP szint a beültetést megelőző állapothoz képest közel tízszeresére nőtt a gyors kamrai ingerléssel kiváltott szívelégtelenségben (4. ábra; 6284±1067 vs. 801±167 pg/ml; p<0,01). A ghrelin koncentráció esetében a súlyos szívelégtelenség kialakulásakor a kiindulási értékhez viszonyítva közel kétszeres növekedést mértünk (1586±220 vs. 905±132 pg/ml; p<0,01). A heti mérések összes eredményének vizsgálatakor a ghrelin és a proANP plazmakoncentráció között szignifikáns pozitív korrelációt találtunk (r=0,37; p<0,03).

4.3.3 A ghrelin és proANP korrelációja az echokardiográfiás paraméterekkel

A proANP plazmakoncentráció negatív korrelációt mutatott az ejekciós frakcióval (r=-0,49; p<0,01), illetve pozitív korrelációt a mitrális regurgitáció fokával (r=0,52; p<0,01), valamint a bal kamrai végdiasztolés (r=-0,48; p<0,01) és végszisztolés (r=-0,52; p<0,01) átmérővel. A ghrelin plazmakoncentráció az echokardiográfiás paraméterek közül a bal kamrai végdiasztolés átmérővel mutatott szignifikáns pozitív korrelációt (r=0,41; p=0,02).



4. ÁBRA *A proANP és ghrelin plazmakoncentrációjának változása a szívelégtelenség kialakulása során (**p<0,01 vs. kontroll; n=13)*

5 KÖVETKEZTETÉSEK

1. A humán perikardiális folyadékban mind az acilált (aktív), mind a dezacilált (inaktív) ghrelin a plazmában mérhetőhöz hasonló mennyiségben van jelen.

2. Ischaemiás szívbetegségben az acilált ghrelin perikardiális koncentrációja magasabb a non-ischaemiás, billentyűbeteg csoporthoz képest, ami a peptid fokozott miokardiális termelődésére utal krónikus szívizom-ischaemiában.

3. Szívbetegekben a perikardiális acilált ghrelin koncentrációját az inzulinrezisztencia és a szívhipertrófia negatívan befolyásolja.

4. Kutya szívizomban és koronária erek falában mindkét ismert ghrelin receptor (GHS-R1a és GHS-R1b) jelenléte kimutatható.

5. A ghrelin farmakológiai dózisai megemelt értónus mellett dózisfüggő érszűkítő hatást váltanak ki izolált kutya koronária arteriolákon, amely nem a GHS-1a ghrelin receptoron keresztül jön létre.

6. A plazma ghrelinkoncentráció szignifikáns emelkedése súlyos szívelégtelenségben, valamint korrelációja a proANP plazma-szintjének növekedésével felveti a peptid lehetséges biomarker szerepét a szívelégtelenség gyors jobb kamrai ingerléssel létrehozott nagyállat (kutya) modelljében.

6 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények:

1. **Sax B**, Nadasy GL, Turi K, Hirschberg K, Furjesz D, Nagy A, Merkely B, Szabo G, Monos E, Kekesi V. (2011) Coronary vasoconstrictor effect of ghrelin is not mediated by growth hormone secretagogue receptor 1a type in dogs. Peptides, 32:362-7. IF: 2,434

2. **Sax B**, Merkely B, Turi K, Nagy A, Ahres A, Hartyanszky I Jr, Huttl T, Szabolcs Z, Cseh K, Kekesi V. (2013) Characterization of pericardial and plasma ghrelin levels in patients with ischemic and non-ischemic heart disease. Regul Pept, 186:131-6. IF (2012): 2,056

A disszertációtól független közlemények:

3. Toma I, **Sax B**, Nagy A, Entz L jr., Rusvai M, Juhasz-Nagy A, Kekesi V. (2006) Intrapericardial angiotensin II stimulates endothelin-1 and atrial natriuretic peptide formation of the in situ dog heart. Exp Biol Med (Maywood), 231:847-51. IF 2,845

4. Nagy A, **Sax B**, Entz L jr., Barat E, Toma I, Becker D, Merkely B, Kekesi V. Comparison of elimination and cardiovascular effects of adenine nucleosides administered intrapericardially or intravenously in anesthetized dog. J Cardiovasc Pharmacol, 2009;54:341-7. IF: 2,826

5. Kovacs A, Apor A, Nagy A, Vago H, Toth A, Nagy AI, Kovats T, **Sax B**, Szeplaki G, Becker D, Merkely B. Left ventricular untwisting in athlete's heart: key role in early diastolic filling? Int J Sports Med, 2013 (DOI: 10.1055/s-0033-1349076). IF: 2,433