

## ЕФЕКТИ ГЛУКАГОНА НА ХЕМОДИНАМСКЕ ВАРИЈАБЛЕ У УСЛОВИМА БЛОКАДЕ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРА

Милановић З.<sup>1</sup>, Павловић А.<sup>2</sup>, Јовановић П.<sup>2</sup>, Радовић Д.<sup>1</sup>, Несторовић В.<sup>1</sup>, Бурсаћ М.<sup>3</sup>, Смиљић С.<sup>1</sup>, Митић Р.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт за физиологију, Медицински факултет Универзитета у Приштини

<sup>2</sup>Хируршка клиника, Медицински факултет Универзитета у Приштини

<sup>3</sup>Институт за фармакологију и токсикологију, Медицински факултет Универзитета у Приштини

## EFFECTS OF GLUCAGON ON HEMODINAMIC VARIABLES IN CONDITIONS ON BLOCADE BETA ADRENORECEPTORS

Милановић З.<sup>1</sup>, Павловић А.<sup>2</sup>, Јовановић П.<sup>2</sup>, Радовић Д.<sup>1</sup>, Несторовић В.<sup>1</sup>, Бурсаћ М.<sup>3</sup>, Смиљић С.<sup>1</sup>, Митић Р.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physiology, Faculty of Medicine, University of Priština

<sup>2</sup>Clinic of surgery, Faculty of Medicine, University of Priština,

<sup>3</sup>Institute of Pharmacology and toxicology, Faculty of Medicine, University of Priština

### SUMMARY

Scientific research of effects of glucagon on the cardiovascular system have shown that glucagon has some cardiostimulatory potential. The very interesting fact is that glucagon shows its cardiostimulatory effects by activating its own, highly specific glucagonic receptors. That is why we wanted to research not only the effects of glucagon on the C.V.S. but also its effects during the depression of the C.V.S. with high doses of beta blockers (presolol) expecting a good hemodynamic response. The experiment has been performed on two groups of 6 dogs. The first group of animal was treated with i.v. bolus injections of glucagon and other group with presolol (15 mg/kg b.w.) i.v., and after that with i.v. bolus injection of glucagon. Hemodynamic variables (mean arterial pressure, central venal pressure and heart frequency) were registered at the 1-st, 2-nd, 3-rd, 10-th, 20-th, 30-th and 40-th minute. The heart frequency was registered by continuous monitoring, mean arterial pressure was registered with catheter in the arterial femoralis, while the central venal pressure was registered over central venal catheter in v. femoralis. After the i.v. bolus injection glucagon shows highly positive effects, followed by short-term increase of the mean arterial pressure, while the c.v.p. considerably falls. During the administration of presolol the heart frequency and mean arterial pressure fall considerably and progressively, while the c.v.p. rises considerably. Glucagon, in conditions of c.v.s. depression by high doses of presolol (15 mg/kg b.w.) considerably increases heart frequency and mean arterial pressure, while the c.v.p. falls considerably.

**Key words:** Glucagon, Presolol, Dog, Hemodynamic variables, Beta-adrenoreceptors.

### САЖЕТАК

Досадашња научна истраживања из области ефеката глукагона на кардиоваскуларни систем несумњиво указују да глукагон поседује одређени кардиостимулаторни потенцијал. Оно што је од нарочитог интереса је чињеница да глукагон свој кардиостимулаторни ефекат остварује активирањем сопствених, високо специфичних глукагонских рецептора. Зато смо желели да овим радом детаљније проучимо не само чисте ефекте глукагона на С.В.С., већ и његове ефекте при депресији С.В.С. високим дозама бета-блокатора (пресолола), очекујући при томе повољан хемодинамски одговор. Експеримент је изведен на две групе од по 6 паса. Прва група животиња је третирана и.в. болус ињекцијом глукагона, а друга група пресололом (15 mg/kg/t.m.) i.v., а након тога i.v. болус ињекцијом глукагона. Хемодинамске варијабле (средњи артеријски притисак, централни венски притисак и срчана фреквенца) су регистроване у 1, 2, 3, 5, 10, 20, 30 и 40-тој минути. Срчана фреквенца је регистрована континуираним мониторирањем, средњи артеријски притисак је регистрован преко катетера који је увођен у артерију феморалис, док је централни венски притисак регистрован преко централног венског катетера који је уведен у вену феморалис. Након i.v. болус ињекције глукагон испољава изразито позитиван хронотропни ефекат, праћен краткотрајним повећањем средњег артеријског притиска, док с.в.р. значајно пада. У току i.v. администрације пресолола долази до значајног и прогресивног пада срчане фреквенце и средњег артеријског притиска, док с.в.р. значајно расте. Глукагон, у условима депресије С.В.С. високим дозама пресолола (15 mg/kg/t.m.), значајно повећава срчану фреквенцу и средњи артеријски притисак, док се вредност с.в.р. значајно смањује.

**Кључне речи:** Глукагон, Пресолол, Пас, Хемодинамске варијабле, Бета адренергички рецептори.

### УВОД

Хумани глукагон је пептидни хормон састављен од 29 аминокиселине, поређаних у један полипептидни ланац, молекулске масе 3485d. Продукују га алфа-

2 ћелије тела и репа панкреаса али и дифузне ендокрине L-ћелије мукозе гастроинтестиналног тракта човека и неких животињских врста.

Базалне вредности циркулишућег глукагона износе од 50-100  $\mu\text{g/ml}$  плазме. У овим физиолошким концентрацијама глукагон испољава неколико различитих метаболичких дејстава. Његова примарна физиолошка улога је хепатична гликогенолиза, глуконеогенеза, липолиза и кетогенеза. Осим ових физиолошких, глукагон испољава и многобројна фармакодинамска дејства, али она настају тек после употребе много виших концентрација од оних које се нормално налазе у плазми као последица ендогеног лучења. Од фармакодинамских дејстава од посебног су значаја његова дејства на С.V.S. у смислу позитивног хронотропног, дромотропног и инотропног дејства. Ове ефекте испољава посредством специфичних глукагонских рецептора, што је и доказано у многим истраживањима. Ова чињеница пружа могућност примене глукагона у одређеним клиничким стањима где стандардна кардиотоничка терапија остаје без жељеног ефекта. Једно од клиничких стања у којима глукагон може бити од користи је третирање срчане инсуфицијенције изазване токсичним дозама пропранолола. До таквог клиничког стања може доћи код пацијената који примају пропранолол у дужем временском периоду за третирање ангине пекторис, артеријске хипертензије или срчаних аритмија. Због блокаде бета-адренергичних рецептора блокирани су и ефекти ендогено ослобођених катехоламина и егзогено датих бета адренергика. У оваквој ситуацији глукагон је лек избора, јер су његови кардиотонички ефекти независни од бета адренергичних рецептора који су блокирани.

Још 1960. године Farah и Tuttle су демонстрирали инотропни ефекат глукагона. (11) Након тога је значајан број аутора дошао на сличан закључак радећи и на животињама и на људима. Код здравих људи глукагон дат и.в. има позитивно хронотропни ефекат, условљен његовим директним деловањем на SA-чвор. (10) Према налазима других аутора постоје докази да глукагон поседује и позитивно дромотропни ефекат. (12,13) Регистровањем великог броја електрокардиограма код паса, показано је да глукагон за око 20% скраћује AV спровођење. (12,14)

Постоје и радови који указују на повољно деловање глукагона у акутној срчаној инсуфицијенцији. Континуирано давање глукагона код 16 дигитализованих пацијената у кардиогеном шоку изазвало је побољшање код 12 у смислу поправљања миокардног спровођења и враћања крвног притиска на скоро нормалне вредности.

Зато смо желели да овим радом детаљније проучимо не само чисте ефекте глукагона на С.V.S. већ и његове ефекте при депресији С.V.S. токсичним дозама бета блокатора.

## ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

На основу досадашњих доступних експерименталних и клиничких резултата добијених применом глукагона, а на основу сазнања да глукагон своје кардиостимулаторне ефекте остварује посредством сопствених рецептора, покушали смо да докажемо да глукагон при-

мењен у инсуфицијенцији С.V.S. изазваној високим дозама бета-блокатора даје повољан хемодинамски одговор, те да се увек може употребити као кардиотоник када стандардна кардиотоничка терапија остаје без одговора.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Експеримент је изведен на 12 одраслих, здравих паса, различитог пола и расе, Т.М. од 14-20 kg. Пси су били смештени у штале за експерименталне животиње, где су гладовали 24 сата (изузев воде), пре експеримента. 15 минута пре почетка експеримента сваки пас је анестезиран *i.m.* ињекцијом Кетамина (30 mg/kg/t.m.) и премештен у експерименталну лабораторију. Затим је животиња постављана на операциони сто у десни бочни положај погодан за компресију стернума и дефибрилацију. Након бријања прекордијалног предела, постављане су самолепљиве електроде које су повезане са монитором, где је континуирано праћен ECG у другом прекордијалном одводу. Након бријања ингвиналног предела, приступало се хируршком препарисању артерије и вене femoralis. Палпацијом у ингвиналном пределу нађе се пулс артерије феморалис, и маказама пресече кожа и фасција. Пажљиво се раздвоји *m.sartorius* и *m.adductor magnus*, између којих се налази идући од унутра пут упоље феморална вена, артерија и нерв. Артерија и вена се изолују и кроз испрепарисану артерију феморалис се убаци катетер у абдоминалну аорту. Други крај катетера се преко трансдјусера повеже са монитором за директно - инвазивно мерење крвног притиска. Артеријска линија се одржава пропирањем катетера са 0,9% натријум хлоридом, у коме се налази хепарин (5000  $\text{ij}/250 \text{ ml}$  натријум хлорида). Кроз вену феморалис је убачен централни венски катетер у вену каву каудалис. Венска линија је служила за мерење централног венског притиска, као и за давање потребних медикамената, а одржавала се спором инфузијом 0,9% натријум хлорида. За све ово време пас је на спонтаном дисању уз очувани ларингеални и фарингеални рефлекс. Након тога се приступало ендотрахеалној интубацији. Уз помоћ ларингоскопа, ендотрахеални тубус са кафом (No 7-7,5) је убачен у трахеју непосредно изнад карине, каф се напумпа да налегне на зидове трахеје и спречи враћање ваздуха, као и сливање секрета и евентуално регургитованог желудачног садржаја у трахеобронхијално стабло. Уз помоћ AMBU-балона, и аускултацијом левог и десног плућног крила процени се дубина постављеног ендотрахеалног тубуса, који се затим фиксира завојем и фластером. Анестезија се продуби *i.v.* давањем Кетамина (2mg/kg/t.m.), а мишићна релаксација се изазивала Павулоном (0,1mg/kg/t.m.). Након тога је пас преведен на механичку вентилацију по типу контролисаног дисања преко респиратора (Simens-Servo вентилатор). На монитору се региструје рад срца, (фреквенца и ритам) *s.v.p.*, и систолни и дијастолни притисак.

Све животиње су након увођења у анестезију првих 10 минута третиране 0,9% натријум хлоридом у спорој инфузији да би се хемодинамски стабиловале. На крају 10-то минутног третмана 0,9% натријум хлори-

дом регистрован је ECG, срчана фреквенца, крвни притисак и с.в.р.

Пси су били подељени у две експерименталне групе од по 6 паса, а свака група је сама себи била контрола у функцији времена.

ПРВА група животиња (Група А: n=6) је након 10-то минутне инфузије 0,9% натријум хлоридом третирана и.в. болус ињекцијом глукагона у дози од 1mg. Хемодинамске и биохемијске варијабле су регистроване у 1,2,3,5,10,20,30 и 40-тој минути. Ова експериментална група животиња је служила за праћење и анализирање чистих ефеката глукагона на кардиоваскуларни систем. Консултујући литературу нашли смо да глукагон дат у овој дози остварује позитивне кардиостимулаторне ефекте. Наиме, нашли смо да се глукагон даје у дози од 50-150 микрограма/kg/h и.в. а да доза одржавања износи 10-20 микрограма/kg/h и.в.

Глукагон (Porck-glukagon-DE Novo ind Copenhagen) 1mg, растваран је у оригиналном растварачу и оригиналном шприцу.

ДРУГА група животиња (Група Б: n=6) је након 10-то минутне инфузије 0,9% натријум хлоридом третирана високим дозама бета-блокатора. Коришћен је Пресолол у ампулама од 5mg, који је администриран и.в. болус ињекцијама, sukcesивно на сваких 5 минута. Просечна доза пресолола скојом смо постизали жељени ефекат износи 15mg/kg/t.m. Као критеријум за артефицијално изазвану инсуфицијенцију кардиоваскуларног система високим дозама бета блокатора служили су пад срчане фреквенце и пад артеријског притиска за 30-40% од контролних вредности. Након третмана пресололом, свим животињама је администриран глукагон и.в. у болусу у дози од 1mg. Хемодинамске варијабле су регистроване на крају третмана пресололом, а након администрације глукагона у 1,2,3,5,10,20,30 и 40-тој минути.

За компаративну анализу узети су у обзир следећи параметри: срчана фреквенца, срчани ритам, средњи артеријски притисак и централни венски притисак.

Регистроване варијабле на крају 10-то минутне инфузије 0,9% натријум хлоридом служиле су као контролне вредности на основу којих је вршено упоређивање са вредностима добијеним у току третмана коришћених лекова.

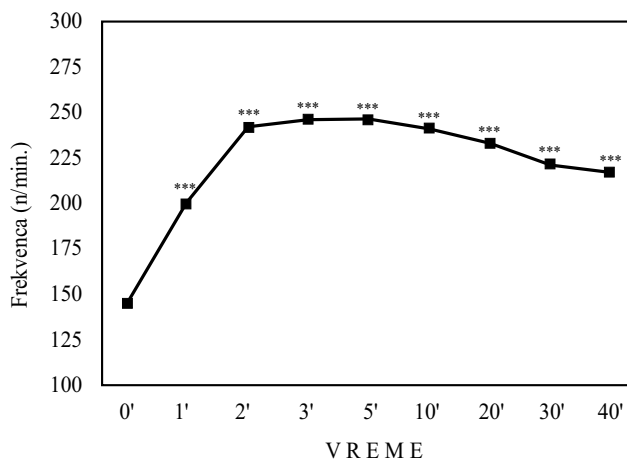
Срчана фреквенца, ритам, систолни и дијастолни притисак су праћени континуирано путем монитора, преко кога је и регистрован ECG, док је централни венски притисак праћен и читаван преко централног венског катетера.

Сви резултати су статистички обрађени студентовим t-тестом, Ни-квадрат тестом и анализом варијансе.

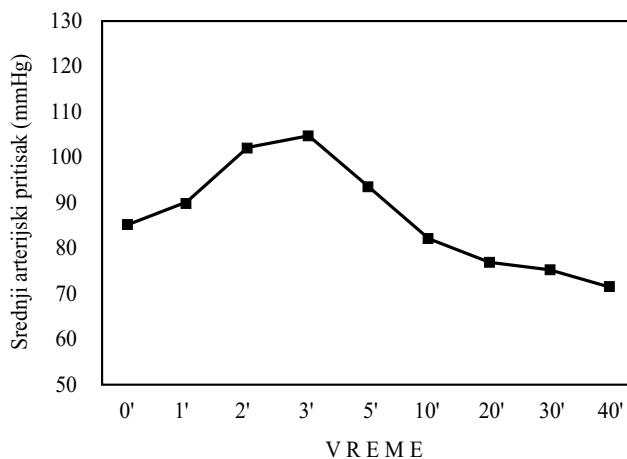
## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Анализом резултата експерименталне групе А, запажа се одмах након администрације глукагона изразито позитивно хронотропни ефекат овог хормона, који се одржава током читавог периода праћења. (граф.1) Наиме, већу току прве минуте након администрације глукагона, срчана фреквенца изразито расте, и свој мак-

симум достиже у 5-тој минути, где просечно износи 245, што је за 80,2% више у односу на контролну вредност. Ово повећање срчане фреквенце је високо статистички значајно ( $p<0,001$ ). Од пете до четрдесете минуте, срчана фреквенца се одржава на високом нивоу, али са трендом благог опадања у функцији времена, да би на крају 40-те минуте била за 48% већа у односу на контролну вредност, што је такође високо статистички значајно ( $p<0,001$ ). Ово је у сагласности са налазима из литературе. Наиме, велики број аутора је запазио позитивни хронотропни ефекат глукагона. (8, 9)



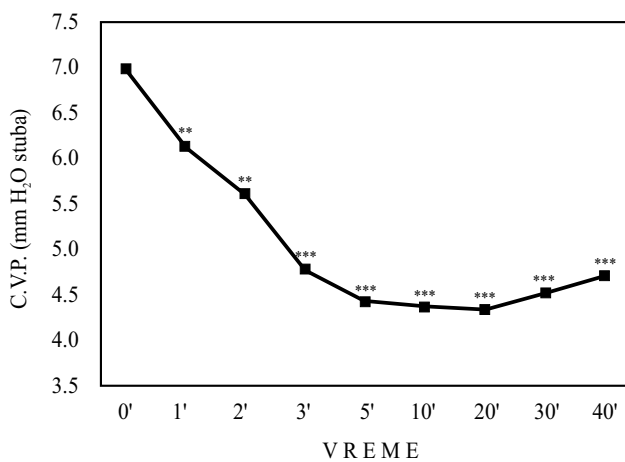
Графикон 1. - Вредности срчане фреквенце (n/min.) у експерименталних паса током времена након администрације и.в. болус ињекције глукагона (1mg) (n=6).



Графикон 2. - Вредности средњег артеријског притиска (mmHg) у експерименталних паса током времена након администрације и.в. болус ињекције глукагона (1mg) (n=6).

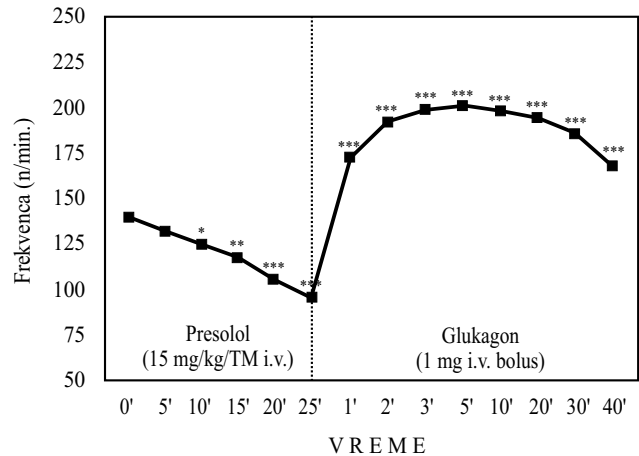
Пораст срчане фреквенце под дејством глукагона, праћен је и истовремено, краткотрајним повећањем средњег артеријског притиска у првих неколико минута након његове администрације, да би у даљем току периода праћења средњи артеријски притисак лагано опадао у функцији времена, и на крају 40-те минуте је за 6,4% нижи у односу на контролну вредност, (граф.2). Ово смањење средњег артеријског притиска није стати-

стички значајно. ( $p > 0,05$ ). Краткотрајни пораст средњег артеријског притиска у првих неколико минута након администрације глукагона, настаје због изразитог повећања срчане фреквенце, чиме се повећава минутни волумен, а самим тим и вредност средњег артеријског притиска. Са друге стране, лагани прогресивни пад средњег артеријског притиска, који следи у даљем току периода праћења настаје из два разлога: Први разлог је, још изразитији пораст срчане фреквенце, чиме се јако скраћује период дијастолног пуњења комора крвљу, те се на тај начин смањује минутни волумен, а самим тим и средњи артеријски притисак. Други и вероватно много значајнији разлог због кога средњи артеријски притисак лагано опада је тај, што глукагон доводи до дилатације мезентеричног васкуларног корита и благог смањења системског васкуларног отпора. Ово је у сагласности са налазима из литературе. Наиме, већи број аутора је радећи

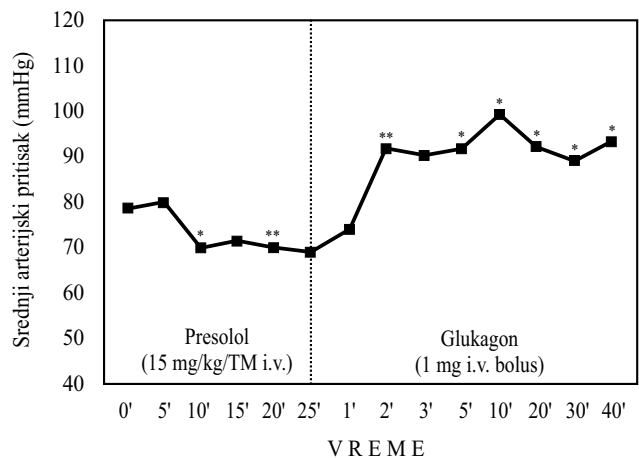


**Графикон 3.** - Вредности централног венског притиска (mm H<sub>2</sub>O) у експерименталних њаса током времена након администрације i.v. болус ињекције глукагона (1mg) (n=6).

на људима и псима, показао, да се под дејством глукагона повећава хепатични проток крви, да долази до дилатације горњег мезентеричког васкуларног корита, и благог смањења системског васкуларног отпора. (1-7) Вредност централног венског притиска се под утицајем глукагона значајно смањује, нарочито у току првих 5-10 минута, где је с.в.р. за око 36% нижи у односу на контролну вредност, и одржава се на том нивоу све до 40-те минуте. (граф.3) Ово смањење с.в.р. под утицајем глукагона је високо статистички значајно ( $p < 0,001$ ) Пад с.в.р. под дејством глукагона је очекиван, обзиром да глукагон испољава позитивно хронотропно али и позитивно инотропно дејство. Повећавајући срчану фреквенцу и снагу срчане контракције глукагон доводи до смањења енд-дијастолног притиска, а самим тим и до смањења централног венског притиска. Ово је у сагласности са налазима из литературе. Наиме, још 1960. год. Farah и сарадници су демонстрирали позитивно инотропно ефекат глукагона, након чега је већи број аутора дошао на сличан закључак, радећи и на животињама и на пацијентима. (11)



**Графикон 4.** - Вредности срчане фреквенце (n/min.) у експерименталних њаса током времена након администрације пресолола (15mg/kg/TM/i.v.) а након одређеног времена и i.v. болус ињекције глукагона (1mg) (n=6).

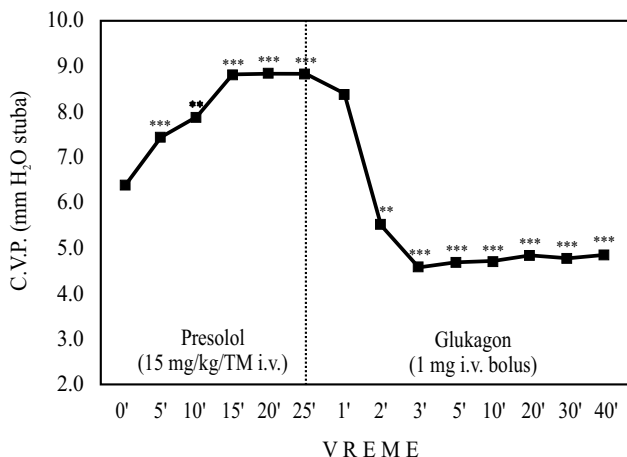


**Графикон 4.** - Вредности срчане фреквенце (n/min.) у експерименталних њаса током времена након администрације пресолола (15mg/kg/TM/i.v.) а након одређеног времена и i.v. болус ињекције глукагона (1mg) (n=6).

Анализирајући резултате експерименталне групе Б, запажа се да у току администрације пресолола у примењеној дози, долази до прогресивног и значајног пада срчане фреквенце, која је на крају третмана за 30.2 % нижа у односу на контролну вредност, што је статистички високо значајно. ( $p < 0,001$ ) (граф.4) Пад срчане фреквенце под дејством пресолола праћен је и значајним смањењем средњег артеријског притиска (граф.5), док централни венски притисак значајно расте (граф.6) Прогресивни пад срчане фреквенце, као и смањење средњег артеријског притиска под дејством пресолола су очекивани и у сагласности су са налазима из литературе, с, обзиром да се бета блокатори компетитивним механизмом везују за бета-адреноцепторе, смањујући на тај начин пресорни учинак ендогених катехоламина на срце. Блокирајући адреноцепторе, бета блокатори на тај начин испољавају негативно хронотропно и негативно инотропно дејство. Редукујући срчану фреквенцу, доводе до смањења минутног волумена, а самим тим и до

смањења средњег артеријског притиска. Пораст централног венског притиска је највероватније последица блокаде великог броја адреноцептора у срчаном мишићу под дејством високих доза пресолола, што доводи до смањења не само срчане фреквенце, већи снаге срчане контракције, са последичним повећањем енд-дијастолног притиска у коморама, а самим тим расте и ретроградно притисак у преткоморама.

Након артефицијално изазване инсуфицијенције кардиоваскуларног система високим дозама пресолола, свим животињама ове групе, администриран је глукагон, *i.v.* у болусу, у дози од 1 mg.



**Графикон 4.** - Вредности срчане фреквенце ( $n/min.$ ) у експерименталних паса током времена након администрације пресолола (15mg/kg/TM/*i.v.*) а након одређеног времена и *i.v.* болус ињекције глукагона (1mg) ( $n=6$ ).

Из граф. 4 се може запазити, да одмах након администрације глукагона, срчана фреквенца изразито расте, и свој максимум достиже у првих 5-10 минута, где је за око 110% већа у односу на вредност регистровану на крају третмана пресололом, што је високо статистички значајно ( $p < 0,001$ ). У даљем току периода праћења, фреквенца се одржава на високом нивоу све до 40-те минуте, али са трендом благог опадања у функцији времена. У исто време, са порастом срчане фреквенце, долази до значајног повећања средњег артер. притиска (граф. 5), са истовременим значајним смањењем централног венског притиска, (граф.6) који се уз незнатне варијације одржавају све до краја периода праћења. Пораст срчане фреквенце и средњег артеријског притиска, као и пад *s.v.p.*, под дејством глукагона у условима блокаде бета-адреноцептора је очекиван и у сагласности са налазима из литературе. Наиме, утврђено је да у срчаном мишићу постоје специфични глукагонски рецептори, који се не могу блокирати бета адренергичним блокаторима, а преко којих глукагон остварује позитиван кардиостимулаторни ефекат.

## ЗАКЉУЧАК

1) Након *i.v.* болус ињекције, глукагон испољава изразито позитиван хронотропни ефекат, који се одржава током читавих 40 минута а и дуже, и највероватније је условљен директним стимулаторним дејством овог

хормона на SA-чвор.

2) Средњи артеријски притисак се под дејством глукагона незнатно повећава само у току првих неколико минута, да би се у даљем току периода праћења незнатно смањило. Краткотрајни пораст средњег артеријског притиска је у корелацији са наглим порастом срчане фреквенце, док је каснији благи пад притиска који следи највероватније условљен смањењем периферног отпора.

3) *S.v.p.* под дејством глукагона значајно пада и одржава се на ниским вредностима током читавих 40 минута, што је у корелацији са позитивним хронотропним ефектом овог хормона.

4) У току *i.v.* администрације пресолола, долази до значајног и прогресивног пада срчане фреквенце и средњег артеријског притиска, док *s.v.p.* значајно расте.

5) Глукагон, у условима бета блокаде значајно повећава срчану фреквенцу и средњи артеријски притисак, док се вредност *s.v.p.* значајно смањује.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Aguilar-Parada, E., Eisentraut, A.M., and Unger, R. H.: Pancreatic glucagon secretion in normal and diabetic subjects. *Amer. J. Med. Sci.*, 257:415-419, (1969).
2. Buchanan, K.B., Vance, J.E., Dinsti, K., and Williams, R.H.: Effect of blood glucose on glucagon secretion in anesthetized dogs. *Diabetes*, 18:11-18, (1969).
3. Foa, P.P.: Glucagon, the hyperglycemic glycogenolytic hormone of the pancreas. *Adv.Int.Med.*, 6:29-58.(1954).
4. Merrill, S.L., Chvojka, V.E., Bercowitz, G.M. and Texter, E.C.: The Effects of glucagon on the Superior Mesenteric Vascular Bed. *Fed.Proc.* 1:200. (1962).
5. Parmley, W.W., Glick, G. and Sonnenblick, E.H.: Cardiovascular Effects of Glucagon in Man. *New Eng. Med.*, 279 : 12 (1968).
6. Shoemaker, W.C. and Van Itallie, T.B.: The Hepatic Response to Glucagon in the Unanesthetized Dog. *Endocrinology*. 66:260.(1968).
7. Shoemaker, W.C. and Van Itallie, T.B. and Walker, W. G.: Measurement of Hepatic Glucose Output and Hepatic Blood Flow in Response to Glucagon. *Amer. J. Physiol.* 192:315, (1959).
8. Manchester, J.H., Parmley, W.W., Matloff, J. M. et al.: Effects of glucagon on myocardial oxygen consumption and coronary blood flow in man and in dog. *Circulation* 41:579, (1967).
9. Cohn, K., Agmon, J. and Gamble, O.W.: The antiarrhythmic effects of glucagon in digitalis toxicity. *Circulation* 409 suppl. 3:60, (1969).
10. Whitehouse, F.W. and James, T.N.: Chronotropic action of glucagon on the sinus node. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 122 :823, (1966).
11. Farah, A. and Tuttle, R.J.: *Pharmacol. Exp. Ther.* 49, 129 (1960).
12. Lipski, J.I., Kaminsky, D.M., Donoso, E. et al: The electrophysiologic properties of glucagon on the normal canine heart. *Am. J. Cardiol.* 23, 123. (1969).
13. Lipski, J.I., Kaminsky, D.M. Donoso, E. and Friedberg, C.K.: The electrophysiological properties of glucagon on the normal canine heart. *Amer. J. Physiol.* 5:1107, (1972).
14. Naack, E.A. and Heinen, E.M.: A kinetic study of calcium transport by heart mitochondria. *Eur.J. Biochem.*, 79:245, (1977).