

AZ INZULINREZISZTENCIA VIZSGÁLATA ÉS BEFOLYÁSOLÁSA ÚJ HATÁSMECHANIZMUSÚ MOLEKULÁVAL

Doktori értekezés

Dr. Literáti-Nagy Botond

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Korányi László DSc, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Somogyi Anikó DSc, egyetemi tanár

Dr. Kautzky László PhD, főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Madácsy László DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Halmos Tamás DSc, egyetemi tanár

Dr. Putz Zsuzsanna PhD, egyetemi adjunktus

Budapest

2015

TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
2. BEVEZETÉS	8
2.1. A DIABÉTESZ FELOSZTÁSA, A PREDIABÉTESZ IDŐSZAKA	9
2.2. A DIABÉTESZ EPIDEMIOLOGIÁJA	10
2.3. A 2DM KIALAKULÁSA – AZ IR JELENTŐSÉGE.....	12
2.3.1. <i>A hősookkéférjék és a károsodott glükózanyagcsere</i>	<i>15</i>
2.3.2. <i>Az inzulinrezisztencia szerepe az endotél diszfunkció kialakulásában</i>	<i>16</i>
2.3.3. <i>A károsodott glükózanyagcsere és a csontállapot kapcsolata</i>	<i>16</i>
2.4. GYÓGYSZER ÁLTAL OKOZOTT INZULINREZISZTENCIA.....	18
2.5. AZ INZULINREZISZTENCIA DIAGNOSZTIKÁJÁNAK NEHÉZSÉGEI, A MÓDSZEREK ÖSSZEHASONLÍTÁSA	19
2.6. A 2DM PREVENCIÓN JELENTŐSÉGE	21
2.7. NAPJAINKBAN HASZNÁLT INZULINÉRZÉKENYÍTŐ ANTIDIABETIKUMOK	23
2.8. BGP-15 - EGY ÚJ TÍPUSÚ INZULINÉRZÉKENYÍTŐ GYÓGYSZERJELŐLT	25
3. CÉLKITŰZÉSEK	28
4. MÓDSZEREK.....	29
4.1. ÁLLATKÍSÉRLETEK.....	29
4.1.1. <i>Izolált aorta thoracica készítése ex vivo vazorelaxáció vizsgálatához</i>	<i>29</i>
4.1.2. <i>Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC)</i>	<i>30</i>
4.1.3. <i>A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata normál és hiperkoleszterinémiás nyúlón .</i>	<i>31</i>
4.1.4. <i>A BGP-15, roziglitazon és metformin inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata Goto-Kakizaki patkányokon.....</i>	<i>31</i>
4.1.5. <i>A BGP-15 aorta relaxációra kifejtett hatása normál és streptozotocinnal előkezelt patkányokon (ex vivo).....</i>	<i>31</i>
4.2. HUMÁN VIZSGÁLATOK MÓDSZEREI	32
4.2.1. <i>Vizsgált személyek</i>	<i>32</i>
4.2.1.1. <i>A korai glükózanyagcserezavar vizsgálata.....</i>	<i>32</i>
4.2.1.1.1. <i>Az IR és a csontanyagcsere kapcsolatának humán vizsgálatai.....</i>	<i>32</i>
4.2.1.2. <i>A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata inzulin rezisztens személyeken</i>	<i>33</i>
4.2.1.3. <i>A BGP-15 hatása az olanzapin által okozott inzulinrezisztenciára.....</i>	<i>35</i>
4.2.1.4. <i>Nemkívánatos események</i>	<i>37</i>
4.2.2. <i>Vizsgálati módszerek</i>	<i>38</i>
4.2.2.1. <i>Orális glükóztolerancia teszt (OGTT)</i>	<i>38</i>
4.2.2.2. <i>Homeostasis model assessment (HOMA)</i>	<i>38</i>
4.2.2.3. <i>Intravénás glükóztolerancia teszt (IvGTT).....</i>	<i>39</i>
4.2.2.4. <i>Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC)</i>	<i>39</i>
4.2.2.5. <i>Kettős röntgensugár abszorpciometria (DEXA).....</i>	<i>41</i>
4.2.2.6. <i>Csontépítést-csontbontást jellemző BMU index</i>	<i>41</i>
4.2.2.7. <i>Biokémiai vizsgálatok</i>	<i>41</i>
4.2.2.8. <i>Farmakokinetikai vizsgálatok</i>	<i>42</i>
4.3. STATISZTIKAI ANALÍZISEK.....	43
5. EREDMÉNYEK.....	45
5.1. A SZÖVETI GLÜKÓZFELHASZNÁLÁS KAPCSOLATA AZ ANYAGCSERE MUTATÓKKAL.....	45
5.2. AZ IR ÉS A CSONTANYAGCSERE KAPCSOLATÁNAK HUMÁN VIZSGÁLATAI	46
5.2.1. <i>A progrediáló inzulinrezisztencia hatása a glükózanyagcsere és csontállapot kapcsolatára nők esetén</i>	<i>46</i>
5.2.2. <i>A csont - és glükózanyagcsere közötti kapcsolat férfiakban</i>	<i>49</i>
5.3. INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÚ GYÓGYSZERJELŐLT MOLEKULA KERESÉSE: BGP-15 PREKLINIKAI VIZSGÁLATAI.....	51
5.3.1. <i>A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata normál és hiperkoleszterinémiás nyúlón .</i>	<i>51</i>
5.3.2. <i>A BGP-15 hatása inzulinrezisztens patkánymodellen.....</i>	<i>53</i>

5.3.3. A BGP-15 hatása az endotél károsodásra	54
5.4. BGP-15 KLINIKAI VIZSGÁLATAI.....	55
5.4.1. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata inzulinrezisztens egyéneken.....	55
5.4.2. A BGP-15 hatása az olanzapin által okozott inzulinrezisztenciára	61
5.4.3. A BGP-15 hatása hatása a csontképzésre	66
6. MEGBESZÉLÉS	68
6.1. AZ IR MÉRÉSÉRE ALKALMAS MÓDSZEREK TESZTELÉSE ÉS AZ IR ÁLLAPOTTAL KAPCSOLATOS ÚJ MEGFIGYELÉSEK.....	68
6.2. A GLÜKÓZANYAGCSERE - CSONTÁLLAPOT KAPCSOLATOK	69
6.3. INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÚ GYÓGYSZERJELÖLT MOLEKULA – PREKLINIKAI VIZSGÁLATA.....	71
6.4. A BGP-15 INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÁNAK IGAZOLÁSA INZULINREZISZTENS EGYÉNEKEN.....	71
6.5. A BGP-15 HATÁSA AZ OLANZAPIN OKOZTA INZULINREZISZTENCIÁRA	74
7. KÖVETKEZTETÉSEK.....	76
8. ÖSSZEFOGLALÁS	78
9. SUMMARY.....	79
10. IRODALOMJEGYZÉK	80
11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	95
12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	98

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

1DM	1-es típusú diabétesz mellitusz
2DM	2-es típusú diabétesz mellitusz
ACh	Acetilcolin
AAPD	Atypical antipsychotic drug (atípusos antipszichotikum)
ADA	American Diabetes Association (Amerikai Diabétesz Társaság)
AE	Adverse event (nemkívánatos esemény)
AIR	Acute insulin response (akut inzulin válasz)
AUC_{0-1h}	Vizsgálati készítmény bevitelét követő 1 órán belüli inzulin plazmakoncentrációjának görbe alatti területe
AUC_{ss}	Steady-state olanzapin plazmakoncentráció görbe alatti területe
β-crosslaps	1-es típusú kollagén C-terminális telopeptid
BFP	Body Fat Percentage (testzsírszázalék)
BMC	Bone Mineral Content (csont ásványianyag mennyiség)
BMD	Bone Mineral Density (csontdenzitás)
BMI	Bone Mass Index (testtömegindex)
BMU	Bone Metabolic Unit (csont metabolikus egység)
cNOS	Konstitutív nitrogén-monoxid szintáz
CRP	C-reaktív protein
DEXA	Dual-energy X-ray absorptiometry (kettős röntgensugár abszorpciometria)
DHEAS	Dehydroepiandrosteron-szulfát
DPP-4	Dipeptidil peptidáz-4
DPPOS	Diabetes Prevention Program Outcomes Study
DRC	Drug Research Centre, Gyógyszervizsgáló Központ Kft
E2	Ösztradiol
EC50	Effektív koncentráció fele
ED	Endotél diszfunkció
eNOS	Endoteliális nitrogén-monoxid szintáz
ETT	Egészségügyi Tudományos Tanács
FFA	Free Fatty Acid (szabad zsírsav)

FSIvGTT	Frequently sampled intravenous glucose tolerance test (gyakori mintavétellel járó intravénás glükóztolerancia teszt)
FSH	Folliculus stimuláló hormon
GCP	Good Clinical Practice (helyes klinikai gyakorlat)
GI	Glükóztolerancia
GK	Goto-Kakizaki
GLUT4	Glükóztranszporter-4
GLP-1	Glucagon-like peptide-1 (glukagonszerű peptid-1)
GOT	Glutamát-oxálacetát-transzamináz
GPT	Glutamát-piruvát-transzamináz
GYEMSZI	Gyógyszerészeti és Egészségügyi Minőség- és Szervezetfejlesztési Intézet
HCV	Hepatitis-C vírus
HDL	High density lipoprotein (nagy sűrűségű lipoprotein)
HEGC	Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp
HOMA	Homeostasis Model Assessment
HOMA-IR	Inzulinrezisztenciát mutató Homa index
HOMA-BCF	Béta-sejt funkciót mutató Homa index
HPLC-MS/MS	Nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria
HR	Hazard ratio (relatív házárd)
HSP	Heat shock protein (hősokkfehérje)
ICAM-1	Intracelluláris adhézións molekula-1
IDDM	Inzulindependens diabetes mellitus
IDF	International Diabetes Federation (Nemzetközi Diabétesz Szövetség)
IFG	Impaired fasting glucose (emelkedett éhomi vércukor)
IGT	Impaired glucose tolerance (csökkent glükóztolerancia)
IKK-β	Inhibitoros kappa B kináz- β
IL-6	Interleukin-6
IR	Inzulinrezisztencia
IRS-1	Inzulinreceptor szubsztrát-1
IS	Inzulinszenzitivitás

ISI	Inzulinszenzitivitási index
IST	Inzulin szupressziós teszt
IVGTT	Intravénás glükóztolerancia teszt
JNK	C-jun N-terminális kináz
L-NAME	N^G -nitro-L-arginin-metil-észter
LP	Lipoprotein
M-érték	Teljes test glükózfelhasználás (mg/kg/min)
MAPK	Mitogén aktivált protein kináz
mU	Milliegység
NAFLD	Non-alcoholic fatty liver disease (nem alkoholos zsírmáj)
NGT	Normál glükóztolerancia
NIDDM	Nem inzulindependens diabetes mellitus
NO	Nitrogén-monoxid
NOS	Nitrogén-monoxid szintáz
nNOS	Neuronális nitrogén-monoxid szintáz
NYHA	New York Heart Association (New York-i Szív Társaság)
OCN	Oszteokalcin
OGTT	Orális glükóztolerancia teszt
OGYI	Országos Gyógyszerészeti Intézet
OPG	Oszteoprotegerin
PAI-1	Plazminogén aktivátor inhibitor-1
P1NP	1- es típusú prokollagén amino-terminális propeptid
PCOS	Policisztás ovárium szindróma
PI3K	Foszfatidil-inozitol-3-kináz
PK	Farmakokinetika
PPARγ	Peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor-gamma
QUICKI	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index (kvantitatív inzulinérzékenységi index)
sRANKL	Soluble receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (szolubilis nukleáris faktor kappa-B receptor aktivátor ligand)
SAE	Serious adverse event (súlyos nemkívánatos esemény)
SD	Standard deviáció

SEM	Standard error of mean (átlag standard hibája)
STZ	Streptozotocin
TNFα	Tumor nekrosis faktor-alfa
Ts	Testsúly
TZD	Tiazolidindionok
Vc	Vércukor
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule 1 (vaszkuláris adhézios molekula-1)

2. BEVEZETÉS

A világszerte terjedő inzulinrezisztencia szindróma és következményes 2-es típusú diabétesz mellitusz (2DM) önmagukban is, és szövődményeik által is, óriási egészségügyi problémát jelentenek. Ellátásuk felbecsülhetetlen anyagi terheit csak a megelőzéssel tudjuk csökkenteni. Számos nagy nemzetközi vizsgálat tanúsítja, hogy az inzulinrezisztencia és az induló cukorbetegség (IFG: emelkedett éhomi vércukor, IGT: csökkent glükóztolerancia) idején elkezdett életviteli változtatások, illetve gyógyszeres beavatkozások eredménnyel előzik meg a cukorbetegség kialakulását vagy lassítják progresszióját (Gillies és mtsai 2007, The Diabetes Prevention Program Research Group 2005, American Diabetes Association 2005).

Az orális antidiabetikumok közül az akarbóz (Chiasson és mtsai 2002), az inzulinérzékenyítő metformin (Knowler és mtsai 2002) és rozigitazon (Gerstein és mtsai 2006) esetében igazolódott a preventív hatás, ám az utóbbi időben a rozigitazon számos mellékhatására derült fény. Kimutatták, hogy jelentősen fokozza a szívroham kialakulásának kockázatát (odds ratio=1.43, (95% confidence interval, 1.03 to 1.98; P=0.03), valamint a kardiovaszkuláris eredetű halálozás mértékét (odds ratio=1.64) (Nissen és Wolski 2007). Több peroxiszóma proliferátor-aktivált receptor-gamma (PPAR γ) agonista készítményről is bebizonyosodott, hogy fokozzák a kardiovaszkuláris események számát, ezért kivonták azokat a forgalomból (Nissen és mtsai 2005, Nissen és Wolski 2007), a pioglitazonról pedig nemrég derült ki, hogy növeli a húgyhólyagrák kialakulásának veszélyét (Nemann és mtsai 2012).

Az inkretin rendszerre ható szerek, a glukagonszerű peptid-1 (GLP-1) analógok és a dipeptidil peptidáz-4 (DPP-4) gátlók - ugyan nem a klasszikus értelemben vett inzulinérzékenyítők, de rendelkeznek kisebb mértékben ilyen hatással - már igen széles körben elterjedtek a 2DM kezelésében. Azonban ezekkel a hatóanyagcsoportokkal is számos biztonságossági probléma merült fel, annak ellenére, hogy még csak néhány éve alkalmazzuk őket. Ismereteseek azok az adatok is, miszerint fokozzák a hasnyálmirigy gyulladását, valamint a hasnyálmirigy- és pajzsmirigy- és pajzsmirigy- és pajzsmirigy- előfordulását (Elashoff és mtsai 2011).

Mindezen aggodalmat keltő mellékhatások, valamint az inzulinrezisztencia korai kezelésének kiemelt jelentősége okán létfontosságú a klinikumban biztonságosan alkalmazható, új hatásmechanizmusú inzulinérzékenyítő vegyületek fejlesztése.

2.1. A DIABÉTESZ FELOSZTÁSA, A PREDIABÉTESZ IDŐSZAKA

A cukorbetegség (diabétesz mellitusz) a glükózanyagcsere zavara, melynek oka lehet egyrészt a hasnyálmirigy szigetsejtjei (β -sejtek) által termelt inzulin hiánya, másrészt a szervezet inzulinnal szembeni érzéketlensége (inzulinrezisztencia), azaz a szervezet relatív inzulinhiánya, harmadrészt a kettő együttes jelenléte. Az abszolút és relatív inzulinhiány következtében az inzulinfüggő sejtek nem képesek a glükóz felvételére, a májban a glükóztermelés (glukoneogenezis) nem csökken, mely folyamatok együttesen a vércukorszint emelkedését, a betegség klinikai manifesztációját eredményezik.

A cukorbetegséget az inzulin abszolút vagy relatív hiánya alapján feloszthatjuk 1-es és 2-es típusú diabétesz mellituszra. Az 1-es típusú diabétesz mellitusz (1DM vagy régebben IDDM inzulindependens diabétesz mellitusz) autoimmun megbetegedés. Autoimmun gyulladás következtében pusztulnak a hasnyálmirigy inzulint termelő β -sejtjei (Klöppel és mtsai 1985). Amennyiben ez a sejtpusztulás a 70%-ot meghaladja (Cnop és mtsai 2005), kialakul az abszolút inzulinhiány. Az 1DM bármely életkorban előfordulhat, mégis leggyakrabban gyermek- és fiatal felnőttkorban jelentkezik.

A 2-es típusú cukorbetegség (2DM vagy régebben NIDDM, nem inzulindependens diabétesz mellitusz) több patológiás elváltozást magában foglaló tünetcsoport, melyre jellemző a β -sejtek inzulinszekréciós zavara, az inzulinérzékeny szövetek (izom-, zsír-, májszövet) csökkent inzulinérzékenysége, az inzulinrezisztencia (IR).

Az inzulinrezisztencia (IR) a glükóztolerancia előtt alakul ki először a májban és a zsírszövetben, majd végül az izomszövetben (Kraegen és mtsai 1991). Az IR stádiumában a mindennapos diagnosztikumként használt 75g-os per os cukorterhelés még teljesen normális (1. táblázat), azonban érzékenyebb módszerekkel (Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp - HEGC) az inzulinfüggő szövetek csökkent glükózfelvétele már kimutatható (Hollenbeck és Reaven 1987).

Emelkedett éhomi vércukorszintről (IFG - impaired fasting glucose) akkor beszélünk, ha a vizsgált személy éhomi vércukra magasabb a normálnál, de az orális glükóztolerancia teszt (OGTT) többi értéke normális (1. táblázat). Ebben a stádiumban a májszövet inzulinrezisztenciája felelős a magasabb éhomi vércukorszintért (Bock és mtsai 2007).

A csökkent glükóztolerancia (IGT: impaired glucose tolerance) esetében a perifériás szövetek csökkent glükózfelvételét jelzi az emelkedett vércukorérték a 2. órában. (1. táblázat). Az IFG, IGT és a kettő együttes előfordulása, az ún. prediabéteszes állapotok, melyek gyakran progrediálnak és kialakul a manifest 2DM.

1. TÁBLÁZAT: A VÉNÁS VÉRCUKORSZINT ÉRTÉKEI A DIABÉTESZ KÜLÖNBÖZŐ STÁDIUMAIBAN

Stádium	Éhomi vércukorszint	Cukorterheléses vizsgálat
Diabétesz	≥ 7 mmol/l	≥ 11.1 mmol/l
Prediabétesz	IGT*	7.8 – 11 mmol/l
	IFG	<7.8 mmol/l
Inzulinrezisztencia**	<5.6 mmol/l	<7.8 mmol/l
Egészséges	<5.6 mmol/l	<7.8 mmol/l

* Az IFG és IGT együttes fennállása esetén az alanyt IGT csoportba sorolják. (Amerikai Diabétesz Társaság 2006)

** Az inzulinrezisztencia már megjelenik a normál glükóztoleranciájú egyéneken is (Hollenbeck és Reaven 1987)

2.2. A DIABÉTESZ EPIDEMIOLÓGIÁJA

Napjainkban világszerte a diabétesz pandémiáját éljük. A Nemzetközi Diabétesz Szövetség (International Diabetes Federation, IDF) 2014-es adatai szerint a cukorbetegek száma 387 millióhoz közelít (International Diabetes Federation 2014), melynek 85-95%-a a 2-es típusba tartozik (International Diabetes Federation 2013).

Az 1-es típusú diabétesz gyakorisága világviszonylatban 0.2% körül van, Európában 0.5%, Magyarországon jelenleg 0.3% körül mozog. Az 1DM incidenciája emelkedik, az

előrejelzések szerint 2020-ra Európában 70 százalékkal, azaz 94 ezerről 160 ezerre nő az 1-es típusú diabéteszes betegek száma a 15 évnél fiatalabbak körében (Gyűrűs és mtsai 2011).

Sajnálatos módon a 2DM incidenciája is rohamosan emelkedik. Legújabb adatok szerint 2010-ben a 20–79 éves korosztályban 285 millió cukorbeteg élt (Barkai és mtsai 2011). 2030-ra ez a szám a növekedés ütemét figyelembe véve előreláthatólag 439 millióra emelkedik. A diabétesz prevalenciája így a 2010. évi globális 6.4%-ról 2030-ra várhatóan 7.7%-ra nő. A fejlődő országokban (Kína, India, afrikai államok) a felnőtt cukorbetegek prevalenciája 69%-kal, míg a fejlett társadalmakban előreláthatólag 20%-kal emelkedik (Shaw és mtsai 2010). Európában jelenleg 55 millió cukorbeteg él, 2030-ra valószínűleg 66 millióra nő a diabéteszes betegek száma, amennyiben nem sikerül megállítani a cukorbetegség járványszerű terjedését (Barkai és mtsai 2011).

Hazánkban sem jobb a helyzet. A Balaton-felvidék régiójában 14% feletti a glükóztolerancia stádiumában lévő egyén (munkacsoportunk eredménye, nem publikált). A Magyar Diabétesz Társaság felmérései szerint Magyarországon közel 1.5 millió cukorbeteg él, de csak a betegek mintegy harmada a diagnosztizált és a megfelelően kezelt eset (Jermendy 2011).

A nemrégiben befejezett Findrisk tanulmány során, ahol 700 háziorvos irányításával, több mint 70 000 felnőttet vizsgáltak, a résztvevők 15 százalékánál, azaz több mint 10 ezer embernél mutattak ki korábban nem ismert glükóztoleranciát, tehát cukorbetegséget, illetve azt megelőző állapotot (Winkler és mtsai 2011). Mindezek alapján elmondható, hogy a manifeszt cukorbetegek csaknem feléről nincs tudomásunk, így könnyen belátható, hogy a 2DM manifesztációt megelőző „prediabétesznek” hívott időszakról sincs, amikor még csak az inzulinrezisztencia, IFG és IGT diagnosztizálható. Becslések szerint jelenleg Európában 60 millió (International Diabetes Federation 2013), az Egyesült Államokban 70 millió ember élhet csökkent glükóztoleranciával (Centers for Disease Control and Prevention 2011). A 2DM „világjárvány” szoros összefüggésben áll az elhízás terjedésével. 1995-ben 200 millió felnőtt volt túlsúlyos vagy kövér világszerte, 2000-re ez a szám mintegy 300 millióra nőtt. Hazánkban a felnőtt magyar lakosság közel kétharmada (61.8%) túlsúlyos vagy elhízott a testtömegindexe alapján (Országos Táplálkozás és Tápláltsági Állapot Vizsgálat 2009).

Az 1990-es években a 2DM, egy „új típusa” jelent meg a fiatalok között, mely szorosan összefügg az ugrásszerűen elterjedt obezitással (Tamborlane és Klingensmith 2013), és egyben magyarázza is az új kórforma megjelenését. Sokkal agresszívebb lefolyást észleltek a klasszikus felnőttkori 2DM-nél, ahol fokozódott a korai mikroalbuminuria és hipertónia előfordulása (TODAY study group, 2013). Mintegy 3700 fiatalos 2DM-et diagnosztizáltak az Egyesült Államokban 2002 – 2003 között (Centers for Disease Control and Prevention 2007).

2.3. A 2DM KIALAKULÁSA – AZ IR JELENTŐSÉGE

A 2DM kialakulásának hátterében a máj, a zsírszövet és a vázizom inzulinrezisztenciája, illetve a β -sejtek funkciójának csökkent kapacitása áll. Bár a legtöbb géneltérés a β -sejtek működésével kapcsolatos, a tapasztalatok azt mutatják, hogy azok a beavatkozások bizonyultak hatásosnak, amelyek csökkentették az IR-t, azaz fokozták az inzulinérzékenységet: az életmódváltoztatások (sport, fizikai aktivitás, testsúlycsökkentés), vagy a gyógyszeres terápiaik közül a biguanidok és a tiazolidindionok (Garber és mtsai 2008). Az IR már évekkel a manifest 2DM előtt kialakul, tehát az IR patogenezisének felderítése jelentheti a kulcslépést a 2DM megelőzésében és terápiajában. A 2-es típusú diabéteszes betegek 80%-a elhízott, a testsúlyemelkedéssel pedig az inzulinérzékenység csökken. Definíció szerint inzulinrezisztenciáról beszélünk, ha a normális mennyiségű inzulin inadekvát választ vált ki a célszövetekben, azaz csökken az inzulinmediált glükózfelvétel és a glukoneogenezis gátlás. A klinikai gyakorlatban normális, vagy csak kismértékben emelkedett vércukorszint mellett hiperinzulinémia mutatható ki.

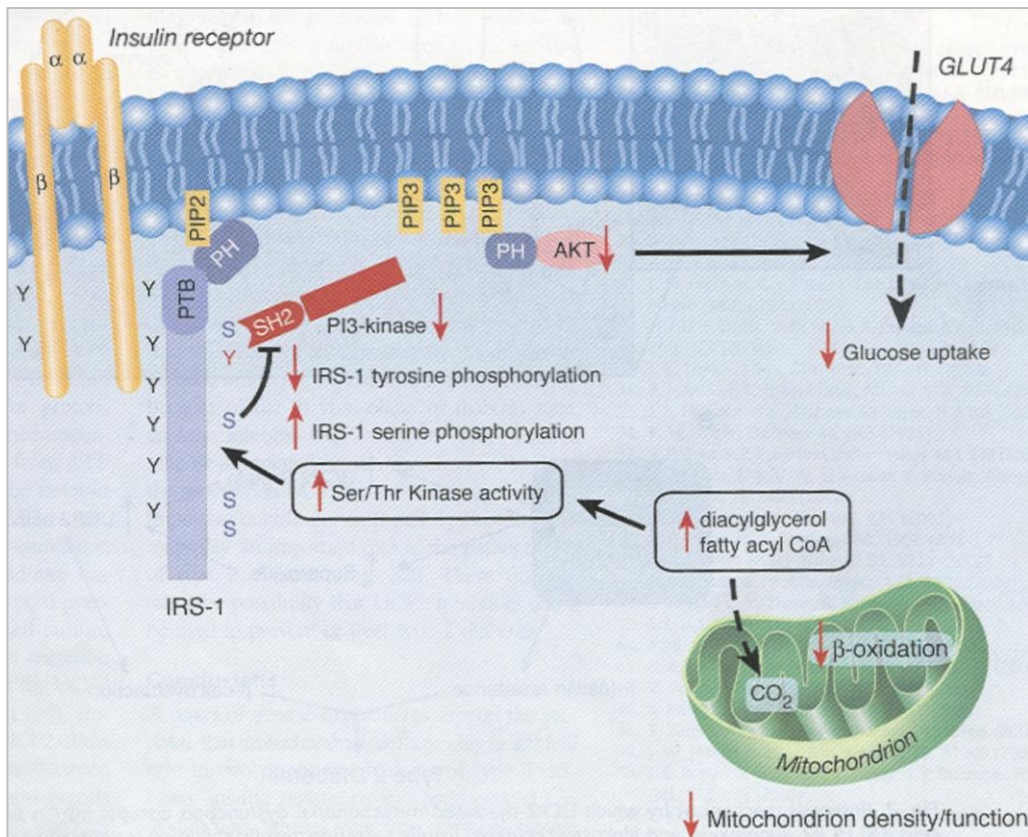
Inzulinrezisztencia számos – patomechanizmusában rendkívül eltérő - betegségben megfigyelhető: stroke, Alzheimer-kór, lipodisztrófiák, nem alkoholos zsírmáj (NAFLD), policisztás ovárium szindróma (PCOS), malignus kórképek, vagy az asthma (Zierath és mtsai 2010). Az elmúlt évtizedekben a tudomány óriási fejlődésen ment keresztül az inzulinhatás szabályozásának kulcsfontosságú molekuláris lépéseinek felderítésében és ezek helyszínéül szolgáló szervek meghatározásában. Az inzulinhatás döntő lépéseinek azonosítása a glükóz-, lipid- és fehérje-anyagcserében új

farmakológiai támadáspontokat képezhet a diabétesz megelőzésében és kezelésében (Zierath és mtsai 2010).

Az IR problematikája a célsejtek közötti és a célsejteken (β -sejtek, máj, zsír és vázizom) belüli kommunikációs hibán alapul. Az inzulin hatásáért felelős jelátviteli utak károsodása a vércukorszint emelkedéséhez, a 2DM kialakulásához, végül a mikro- és makrovaszkuláris szövődmények megjelenéséhez vezet. Az inzulin, mint egy karmester hangolja össze az inter- és intracellularis folyamatokat a zsírok raktározásától egészen a glükóz felhasználásáig.

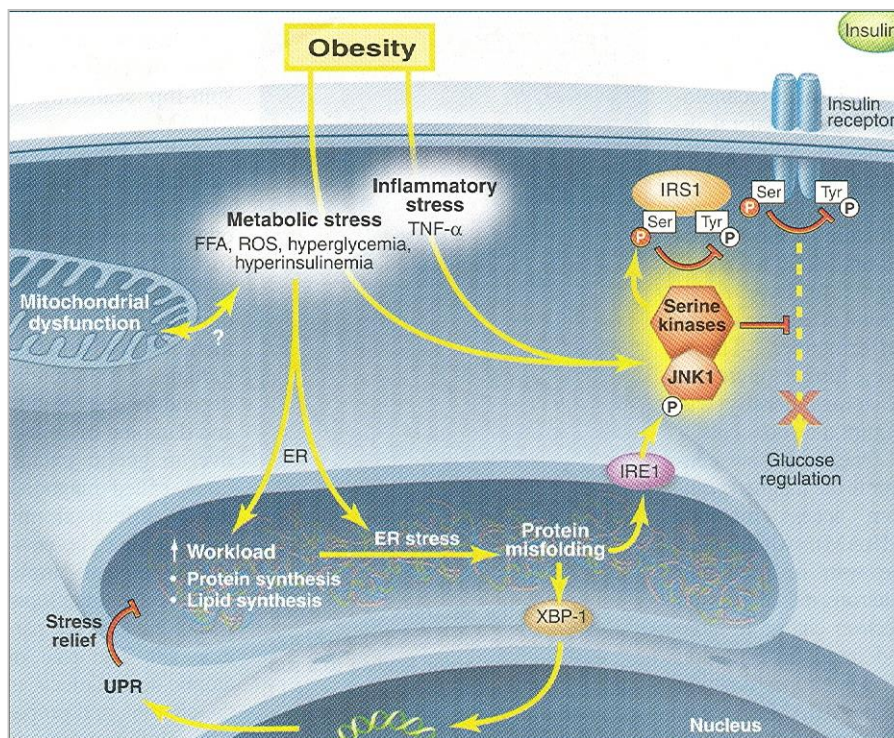
A mitokondriumok nélkülözhetetlenek a lipid-, és a glükózanyagcsere összekapcsolásában, hiszen a tápláltsági állapottól függően (éhomiai vagy posztprandiális állapot) képesek átkapcsolni az egyik energiatermelő folyamatból a másikba (zsírsav- vagy glükóz-oxidáció). A túlzott táplálékbevitel okozta lipidtúlerhelés, következményes lipidtoxicitás során a zsírszövet már képtelen több lipidet elraktározni, a fölösleges zsír a májban és az izomban halmozódik fel, mely IR-hoz és „metabolikus inflexibilitás”-hoz, azaz az anyagcsereutak közötti átkapcsolás képtelenségéhez vezet (Zierath és mtsai 2010).

A mitokondriális diszfunkció és/vagy a mitokondriumok számának csökkenése miatt csökken a mitokondriális zsírsav-oxidáció, és megemelkedik az intracelluláris acetyl-CoA és diacylglycerol szintje (Shulman 2000; Yu és mtsai 2002.) (1. ábra). Ennek következtében az aktivált protein-kináz-C beindítja a szerin-kináz kaskádót, amely az inzulinreceptor szubsztrát-1-en (IRS1) fokozott szerin foszforilációt eredményez. Ezáltal elindul az inzulinhatás posztreceptorális jelátvitelében egy gátló szignál, hiszen a fokozott szerin foszforiláció gátolja az IRS1-en a tirozin foszforilációját. A blokkolt tirozin foszforiláció csökkenti a foszfatidil-inozitol-3-kináz (PI3K) aktivitását, emiatt kevesebb GLUT-4 glükóztranszporter jut fel a sejtmembránba, így csökken a sejtek glükózfelvétele, károsodik az inzulinhatás.



1. ábra: A mitokondrium működési zavara, mint az inzulinrezisztencia kialakulásának egyik oka (Lowell és Shulman 2005)

Különböző külső biológiai stresszorhatások, mint az oxigénhiány, infekció, toxikus ágensek felborítják az endoplazmatikus retikulum homeosztázisát, károsítják a fehérjék normál térszerkezetének kialakulását, ezáltal hiányosan és hibásan („unfolding” és „misfolding”) feltekeredett fehérjék keletkeznek (Muio és Newgard 2004) (2. ábra). A proteinek helyes térszerkezetének kialakításában a stressz-, vagy hő sokkfehérjéknek (HSP) kiemelt szerepe van. A HSP-k mennyisége és megfelelő aktivitása kritikusan fontos szerepet tölt be a sejtek működésében, így a hő sokkfehérjék mennyiségét és működését befolyásoló gyógyszerek fejlesztése az anyagcsere-betegségek kezelésének egyik célpontja.



2. ábra: Az endoplazmatikus retikulum szerepe a mitokondriális működési zavar kialakulásában (Muio és Newgard 2004).

2.3.1. A hőszokkfehérjék és a károsodott glükózanyagcsere

Az elmúlt évtizedben az inzulinrezisztencia, és a 2DM kórfolyamatának megértésében új ismeretet jelentett az, hogy az inzulindependens szövetekben (vázizom, zsírszövet) összefüggést találtak a csökkent intracelluláris hőszokkfehérje (HSP) szintek és az anyagcserezavar között (Kurucz és mtsai 2002; Hooper és Hooper 2005; Hooper és Hooper 2009). Genetikai manipulációval, hővel, vagy gyógyszeresen kiváltott HSP72 indukció felerősíti az inzulin jelátvitelt, javítja a mitokondriumok működését (Chung és mtsai 2008, Kolonics és mtsai 2006). Vizsgálatunk tárgyát egy olyan gyógyszerjelölt molekula klinikai vizsgálata képezi, amelyről preklinikai adatok igazolták, hogy a HSP indukción keresztül fejti ki inzulinérzékenyítő hatását (Chung és mtsai 2008).

2.3.2. Az inzulinrezisztencia szerepe az endotél diszfunkció kialakulásában

Az endotél diszfunkció (ED) kulcsszerepet játszik a diabétesz mikrovaszkuláris szövődményeinek kialakulásában (Tooke 1995) és az arterioszklerózis korai stádiumában (Ross 1999). Endotél diszfunkcióban felborul az endotélsejtek működését szabályozó tényezők egyensúlya, melyet a vazokonstriktív és/vagy vazodilatatív zavara, megnövekedett vaszkuláris proliferáció, proatherogén faktorok felerősödése, abnormális koagulációs/fibrinolitikus folyamatok jellemeznek (Quyyumi 1998). Klinikai és experimentális megfigyelések is bizonyítják, hogy mind a diabétesz, mind az IR endotél diszfunkciót okoz az endotélsejtek károsodásán - az antiatherogén védelem elvesztésén - keresztül (Calles-Escandon 2001, Baron 2002). A diabéteszben kialakult ED-t az acetilkolin által kiváltott vazorelaxáció csökkenése mutatja meg (Feener és King 2001). Egy, koronária betegekben és 2-es típusú diabéteszes betegekben nemrég befejezett tanulmány szerint az inzulinérzékenyítő (IS) metformin és a tiazolidindionok szignifikánsan csökkentették a perifériás érbetegség kialakulásának kockázatát (HR: 0.66 [95% CI 0.51-0.83], $p < 0.001$) és az ebből származó revaszkularizációs beavatkozások és amputációk számát (Althouse és mtsai 2013).

2.3.3. A károsodott glükózanyagcsere és a csontállapot kapcsolata

A csontállapot felmérésére szolgáló denzitométerek elterjedése óta ismert megfigyelés, hogy a testsúly növekedése, a magasabb BMI fokozott csontdenzitással társul, valamint hogy az 1DM-ben a csontok denzitása alacsonyabb, míg a 2DM-ben magasabb. Ezt a jelenséget sokáig csak a 2DM esetében általában a magasabb BMI következményének tartották. Egyes kutatók az 1-es típusú diabéteszes betegek esetében a csökkent csonttömeget, a megnövekedett törési kockázatot, a törések hosszabb gyógyulási idejét, csontjaik károsodott biomechanikus integritását az inzulinhiány következményének tartják (Reddy és mtsai 2001). Az inzulin hatásának tulajdonították, hogy a jó anyagcserehelyzetben lévő 2-es típusú diabéteszes betegeknek nem kisebb a csonttömegük és úgy tűnt, védettek a csonttrikulástól. A rossz anyagcsere-állapotú 2DM-es betegek esetében is az inzulin hiányára gyanakodtak, mert a szénhidrátház tartás rendeződésével a csontanyagcsere is javult (Rosato és mtsai 1998). A csontmarker és

csontdenzitási adatokra támaszkodó klinikai vizsgálatok szerint az orális antidiabetikumok (metformin és glibenklamid) is javították a csontállapotot (Adami 2009). Az egyértelműnek látszó összefüggéseket azonban megkérdőjelezte, hogy kiderült, a törési kockázat a 2DM -ben is magasabb (Schwartz és mtsai 2011).

Az elhízás, a metabolikus szindróma, a 2-es típusú cukorbetegség és a csontritkulás előfordulása világszerte növekszik, vagyis a világméretű diabétesz járványt ugyanaz az elhízás „hajtja”, amely nők esetében erősebb csontokat eredményez (Sosa és mtsai 2009). Ha a glükózanyagcsere romlása valóban kapcsolatban áll a csontok állapotával (Adami 2009), akkor ennek a kapcsolatnak a változása a prediabétesz idején már észlelhető lesz és az energiaháztartás romlásával arányosan fog változni a csontmetabolizmus (Buday és mtsai 2007).

A közelmúltban Karsenty multinacionális munkacsoportja génmanipulált egereken vizsgálta a csontok és a energiahomeosztázis feedback kapcsolatát (Lee és mtsai 2007), és azt találták, hogy az oszteoblasztok által szekretált oszteokalcin (OCN) hiányakor csökken a hasnyálmirigy β -sejtek proliferációja, glükóztolerancia és inzulinrezisztencia alakul ki. Az *ex vivo* OCN a β -sejtekben stimulálta a *CyclinD1* és *inzulin* és a zsírsejtekben az *adiponektin* génexpressziót. Az OCN *in vivo* javította az állatok glükóztoleranciáját. Adataik alapján feltételezték, hogy a csontrendszer a cukoranyagcsere regulátora és egy újabb endokrin szervet ismertünk meg.

Az irodalmi adatok szerint a csontanyagcsere és a glükózanyagcsere közötti kapcsolatban az OCN nemcsak az inzulin szekrécióját és az inzulinérzékenységet fokozza, hanem az állatkísérletekben, hím egerek Leydig sejtjeiben a tesztoszteron termelését is (Guntur és Rosen 2012). Humán adatok szerint az alacsony tesztoszteronszint szorosan kapcsolódik a metabolikus szindróma és az inzulinrezisztencia jelenlétéhez is (Traish és mtsai 2009), ezért az OCN és csontanyagcsere kapcsolatban nem nélkülözhető a tesztoszteron vizsgálata.

A csont- és szénhidrát-anyagcserében fontos szerepet játszó, és döntően a zsírsejtekből származó adipokinek vérszintje jelentős nemi különbséget mutat. Nők esetében

nemcsak a test zsírtartalma magasabb, de a leptin, adiponektin és egyes adatok szerint a rezisztin vérszintje is (Silha és mtsai 2003). Miután a leptin és az adiponektin a csontformáció és az inzulinérzékenység, energiafelhasználás fontos regulátorai, a két nem együtt nem vizsgálható.

2.4. GYÓGYSZER ÁLTAL OKOZOTT INZULINREZISZTENCIA

Az elmúlt évtizedben a klinikusok és a kutatók körében növekvő aggodalmat keltettek az atípusos antipszichotikum (AAPD) kezelés okozta súlyos metabolikus mellékhatások, beleértve a testsúlynövekedést, hiperlipidémiát és glükóztoleranciát (Allison és Casey 2001, Newcomer 2005, Wirshing és mtsai 2002, Jin és mtsai 2004, Meyer és Koro 2004). A folyamat hátterében az AAPD okozta fokozott éhségérzet, valamint a táplálékfelvétel szabályozási zavara áll. Az elhízás következménye a kóros irányú anyagcsere-változás, az inzulinrezisztencia, a diszlipidémia, majd a diabétesz.

Az antipszichotikumok okozta testsúlynövekedés gyors lefolyású. Egy metaanalízis szerint, különböző vegyületek 10 hetes kezelési periódus alatt különböző mértékű testsúlygyarapodást okoztak: a klozapin 4.45 kg-t, az olanzapin 4.15 kg-t és a risperidon 2.10 kg –t. (Allison és mtsai 1999).

A gyógyszert még nem szedett betegek körében az olanzapin (12.7 mg/nap) 7.5 kg-os testsúlynövekedést okozott 3 hónapos alkalmazás után (Perez-Iglesias és mtsai 2007). Egészséges önkéntesek 17 napos olanzapin kezelése (10 mg/nap) 2.8 kg-os testsúlynövekedést (Sowell és mtsai 2002), 10 napos kezelése (10 mg/nap) pedig teljes test inzulinrezisztenciát okozott (Sacher és mtsai 2008).

A 2004-es ADA konszenzus konferencia következtetése szerint az olanzapin és a risperidon emelik a diabétesz kialakulásának kockázatát (Amerikai Diabétesz Társaság 2004). Az AAPD kezelés bevezetése óta évi 0.7%-kal növekszik a 2DM-es skizofrén betegek száma az átlag populációhoz képest (Basu és Meltzer 2006). Számos próbálkozás történt az AAPD diabéteszt okozó mellékhatásának kivédésére.

Az antidiabetikus hatású metformin inzulinérzékenyítő tulajdonságú és nem növeli a cukorbeteg testsúlyát. A metformin az egyik lehetséges megoldás az olanzapin okozta metabolikus mellékhatások kezelésére, azonban az irodalomban található adatok ezt a feltételezést nem támogatják egyértelműen. Míg Wu és munkatársainak adatai szerint a metformin önmagában vagy életmódváltással kombinálva szignifikánsan csökkenti az

antipszichotikus kezelés mellett kialakult elhízást (Wu és mtsai 2008), addig Baptista és munkatársai klinikai vizsgálat során nem tapasztalták a metformin védőhatását sem az olanzapin által okozott testsúlynövekedéssel, sem az inzulinrezisztenciával szemben (Baptista és mtsai 2006).

2.5. AZ INZULINREZISZTENCIA DIAGNOSZTIKÁJÁNAK NEHÉZSÉGEI, A MÓDSZEREK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Az IR helyes meghatározásának kiemelt jelentősége van a kórfolyamat patofiziológiai oldalának vizsgálatában, csakúgy, mint terápiás beavatkozások végpontanalízisében, vagy a betegek állapotának nyomon követésében, ezért több mérési módszert fejlesztettek ki az IR meghatározására:

- direkt: Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC), Inzulin szuppressziós teszt (IST)
- indirekt: gyakori mintavétellel járó intravénás glükóztolerancia teszt (FSIvGTT), orális glükóztolerancia teszt (OGTT)

Ezek közül a hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC) mind a mai napig a világon széles körben elfogadott közvetlen meghatározási módja – „a gold standard”-ja – az inzulinérzékenység (IS) vizsgálatának. Mivel ezek eszköz- és időigényes vizsgálatok, az elmúlt években keresték az IR-t jellemző egyszerű indexeket, melyek a vizsgált anyagcsere-állapottól függően lehetnek (i) éhomi, steady-state értékekből származtatott indexek, vagy (ii) glükózterheléses, úgynevezett dinamikus tesztekben kapott indexek (Muniyappa és mtsai 2008).

A HOMA (Homeostasis Model Assessment) számítási modell az éhomi glükóz- és inzulinszint felhasználásával az IR (HOMA-IR) és a β -sejt funkció (HOMA-BCF) károsodásának széles spektrumát méri (Matthews és mtsai 1985). Az irodalmi adatok szerint a HOMA, valamint annak megújított változata a HOMA2 (Levy és mtsai 1998) a máj- és a β -sejtek közötti visszacsatolási körön alapuló szabályozási mechanizmust írja le: a vércukorszintet a máj inzulindependens glükóztermelése (gátlása) szabályozza, míg az inzulinszintet a β -sejtek glükózkoncentrációra adott válasza határozza meg.

Az éhomi inzulinszintek nagyfokú variabilitása miatt a logaritmizált HOMA jóval szorosabb korrelációt mutat a HEGC-el mért inzulinszenzitivitással, mint a nem transzformált forma (Katz és mtsai 2000). A HOMA indexeket, elsősorban a HOMA-IR-t nagyméretű epidemiológiai tanulmányokban, nagy betegszámú prospektív klinikai vizsgálatokban használják (Dabelea és mtsai 1999; Haffner és mtsai 1997).

Szintén az éhomi glükóz- és inzulinszint matematikai feldolgozásából eredő inzulinszenzitivitási index a QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index), mely megbízható, reprodukálható, pontos és kiváló pozitív prediktív erővel rendelkezik (Chen és mtsai 2005; Chen és mtsai 2003; Hanley és mtsai 2003). A QUICKI a logaritmizált HOMA-val ($\log(\text{HOMA})$) azonos nagyságrendű korrelációt mutat a HEGC-el mért inzulinszenzitivitással ($r = 0.8-0.9$). Az éhomi indexek közül a QUICKI és a $\log(\text{HOMA})$ a legtöbbször validált és kipróbált módszer a clamp helyettesítésére nagy epidemiológiai és klinikai vizsgálatokban a terápiás hatás nyomon követésére. Olyan vizsgálatokban azonban, ahol az IR/IS állapot felmérésének prioritása van a megvalósíthatósági tényezők (ráfordított költség, idő, invazivitás stb.) felett (pl.: vizsgálatban résztvevő egyének száma <100), a HEGC a megfelelő módszer (Muniyappa és mtsai 2008).

A glükózterhelésen alapuló módszerekből számolt dinamikus indexek is jól korrelálnak a clamp eredményekkel (Gutt és mtsai 2000; Mari és mtsai 2001). Epidemiológiai tanulmányok szerint az OGTT-ből származó inzulinszenzitivitási indexek (ISI), mint a Matsuda, vagy a Cederholm féle ISI (Matsuda és DeFronzo 1999, Cederholm és Wibell 1990) megbízhatóan prognosztizálják a 2DM kialakulását (Abdul-Ghani és mtsai 2007; Hanley és mtsai 2003; Hanson és mtsai 2000). A dinamikus tesztek előnye, hogy az inzulinszekrécióról és hatásról egyszerre kapunk információt. Az IR/IS meghatározásakor azonban - egyszerűségük miatt - az éhomi tesztek a megfelelőek.

Mind a preklinikai, mind a humán vizsgálatok során az IR/IS állapotának pontos meghatározására törekedtünk, ezért kivétel nélkül minden esetben a HEGC módszert használtuk.

2.6. A 2DM PREVENCIÓ JELENTŐSÉGE

Az elhízás, a helytelen táplálkozás és a mozgásszegény életmód a 2DM kialakulásának legfontosabb rizikófaktorai. A Harvard egyetem munkacsoportja egy 16 évet felölelő követéses vizsgálatban mutatta ki, hogy a heti 5 nap 30 perces testedzés és a magas rosttartalmú, alacsony zsírtartalmú diéta a 30-55 éves nők esetében szignifikánsan csökkentette a 2DM kialakulását (Hu és mtsai 2001). Egy finn kutatócsoport 3 éven át több mint 500 IGT-s, túlsúlyos emberen vizsgálta a diéta és a fizikai aktivitás testsúlycsökkentő hatását. A tanulmányban résztvevő IGT-s betegek több mint felénél a kalóriaszegény diéta és a mozgás kivédte a 2DM kialakulását (Lindström és mtsai 2003). Kínában is végeztek a diabétesz megelőzésére irányuló vizsgálatot, amelyben 577 IGT-s felnőtt vett részt. Vizsgálták, hogy az aktív életmód-terápia (diéta-, mozgás-, vagy együttesen diéta- és mozgásprogram) milyen hatással lesz a diabétesz kialakulására. A 6 évig tartó kezelési időszak után az aktív programban résztvevők között 51%-al, 20 éves követés után 43%-al volt alacsonyabb a 2DM incidenciája. Tehát az életmódváltás megelőzheti, de mindenképpen késlelteti a 2DM megjelenését (Li és mtsai 2008).

Az irodalmi adatok szerint az életmódváltás, és/vagy a gyógyszeres kezelés nemcsak csökkenti a diabétesz kialakulásának valószínűségét, de a betegek 20-50%-nak glükóztoleranciája is normalizálódott (Chiasson és mtsai 2002; Eriksson és Lindgarde 1991; Gerstein és mtsai 2006; Knowler és mtsai 2002). A nemrég publikált Diabétesz Prevenció Program Eredményei (DPPOS - Diabetes Prevention Program Outcomes Study, Perreault és mtsai 2012) szerint azok között, akik az 5-7 éves követés során legalább egyszer elérték a normális glükóztolerancia (NGT) állapotát, 57%-al csökkent a 2DM kialakulása, függetlenül attól, hogy gyógyszeres kezelésben részesültek, vagy életmódváltás történt. Minél többször érték el a betegek az NGT stádiumát, annál nagyobb mértékben csökkent a 2DM kialakulásának kockázata (Perreault és mtsai 2012). Több mint 3000 IFG-s és IGT-s emberrel végzett, átlag 2.8 éves követéses vizsgálatban az életmód-változtatás 58%-al, míg a 2x850 mg metformin szedése csak 31%-al csökkentette a 2DM incidenciáját. A két csoport között a különbség szignifikáns (Knowler és mtsai 2002). A fenti adatok bizonyítják, hogy a diabéteszt megelőző állapotok (IR, IFG, IGT) felismerésének és kezelésének különleges szerepe van. A 2DM

kialakulása ebben a stádiumban még kivédhető, illetve a betegség megjelenése késleltethető, így a XXI. századi metabolikus világvárvány terjedése lassítható.

A dolgozatban ezért a 2-es típusú cukorbetegséget megelőző anyagcsere-állapotra, a glükózintolerancia kialakulásának folyamatára koncentráltunk. Vizsgálataink során az egészségestől a gyógyszeres kezelést még nem igénylő 2-es típusú cukorbetegéig ívelt át a vizsgált személyek sora.

2.7. NAPJAINKBAN HASZNÁLT INZULINÉRZÉKENYÍTŐ ANTIDIABETIKUMOK

A **metformin** a 2DM elsőként választandó szere az orális antidiabetikumok közül. Inzulinerzékenyítő hatását főként a máj glükóztermelésének gátlásával éri el, illetve fokozza az izom-, és kisebb mértékben a zsírszövet glükózfelvételét. Mellékhatásai közül kiemelendők a gasztrointesztinalis mellékhatások: intenzív gázképződés, hasmenés. Beszűkült veseműködés esetén (GFR <60 ml/min) fokozott óvatossággal adjuk. Monoterápiában, illetve gyakorlatilag bármely más antidiabetikummal kombinálva alkalmazzuk. Az inzulínrezisztencia nőgyógyászati manifesztációja, a policisztás ovárium szindróma (PCOS) kezelésére is használják az IR csökkentésére, bár a magyar törzskönyvben ez az indikáció nem szerepel.

A **tiazolidindionok (TZD)** vércukorszintet szabályozó hatásukat a peroxiszóma proliferátor receptor-gamma (PPAR- γ) aktivációjával fejtik ki. Mivel ez egyben transzkripciós faktor is, az inzulín jelátvitelben kulcsszerepet játszó tényezők (IRS, GLUT-4 stb) génexpressziójának, így termelésének fokozásával javítja az inzulinerzékenységet. Közvetett módon a tumor nekrosis faktor-alfa (TNF- α) gátlásával, az adiponektin termelésének serkentésén keresztül is fokozza az inzulinerzékenységet (Yki-Järvinen 2004). Legfőbb támadáspontjuk a zsírszövet, de csökkentik az izom és a máj inzulínrezisztenciáját is. Kismértékben növelik a HDL koleszterinszintet, csökkentik a prokoaguláns plazminogén aktivátor inhibitor-1 (PAI-1), adhéziós molekulák (VCAM-1, ICAM-1), gyulladáshoz közlő mediátorok (CRP, IL-6) (Yki-Järvinen 2004) szintjét. Számos kedvező tulajdonságuk mellett nagyszámú mellékhatással is rendelkeznek: a zsírdépők „átrendeződéséből” származó testsúlynövekedés, az ödémakészség fokozódásából eredő folyadékretenció (Yki-Järvinen 2004), továbbá csonttörések számának és rizikójának növekedése (Kahn és mtsai 2008), mely a kortikális csontképződés csökkenésének és a csontvelői zsír felszaporodásának lehet a következménye (Winkler 2010).

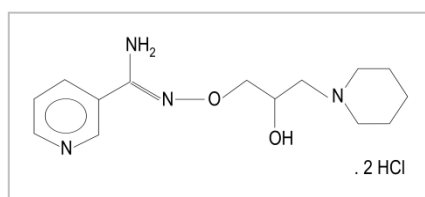
A korábban megjelent adatok (Nissen 2007), miszerint a TZD-k növelik az akut koronária események előfordulását és a kardiovaszkuláris halálozást, meglehetősen leszűkítették alkalmazásukat a klinikai gyakorlatban (elsősorban a roziglitazon esetében), ennek megfelelően csak kellő óvatossággal adható koronária betegség esetén (Winkler 2010).

2.8. BGP-15 - EGY ÚJ TÍPUSÚ INZULINÉRZÉKENYÍTŐ GYÓGYSZERJELŐLT

Az eddigi tapasztalatok arról szóltak, hogy a 2DM-t megelőzni csak a prediabétesz időszakában lehet, és miután erre az időszakra a romló inzulinérzékenység a jellemző, célszerű olyan molekulákat fejleszteni, amelyek az inzulinrezisztenciát javítják.

Pályafutásom során módomban nyílt arra, hogy részt vegyek egy új hatásmódú inzulinérzékenyítő molekula, a BGP-15 fejlesztésében, a preklinikai munkákban és az azt követő humán klinikai vizsgálatokban.

Az N-Gene Kutatási és Fejlesztési Kft. -ben fejlesztett BGP-15 molekula egy hősokkfehérje indukáló O-alkilált hidroximsav származék ([O-(3-piperidin-2-hydroxy-1-propyl)-nikotinsav amidoxim dihydrochlorid]) (3. ábra), melyet kezdetben kemoterápiás szerek toxikus mellékhatásainak kivédésére szántak.



3. ábra: A BGP-15 molekula szerkezeti képlete

A hősokkfehérje-indukcióval magyarázott „kemo-preventív” hatásnak (Racz és mtsai 2002, Bárdos és mtsai 2003) terápiás jelentősége a rákellenes szerek - ciszplatin, carboplatin, paclitaxel, 5-fluoruracil (5-FU) - súlyos toxikus mellékhatásainak (neuropátia) kivédésében nyilvánult meg (Sümegei és mtsai 2000). A molekulacsalád (hidroximsav származékok) egyes tagjait (bimocloamol, arimocloamol) a diabétesz komplikációinak megelőzésére (Bíró és mtsai 1997, Vigh és mtsai 1997), valamint az amyotrophiás lateralsclerosis (ALS) kezelésére, mint hősokkfehérje-koinducert (Rabloczky és mtsai 2002) vizsgálták.

A hősokkfehérje-indukció a 2DM és az inzulinrezisztencia vonatkozásában is rendkívül érdekes kérdés, hiszen a 2DM-t és az inzulinrezisztenciát a vázizom csökkent HSP72 expressziója jellemzi (Bruce és mtsai 2003), mely szoros összefüggést mutat a teljes test

cukorfelhasználással (Kurucz és mtsai 2002). A BGP-15 *in vitro* körülmények között növeli a HSP72 expresszióját (Kolonics és mtsai 2004, Kolonics és mtsai 2006).

Elhízásban és 2DM-ben a gyulladást előidéző citokin, a TNF- α termelődése fokozódik és ez az inzulinreceptor gátlását előidéző – szerin/treonin kináz enzimek aktivációját eredményezi (Chung és mtsai 2008). A HSP72 csökkenti az inhibitoros kappas B kináz- β (IKK- β) és a gyulladási folyamat jelátvitelében fontos c-jun N-terminális kináz (JNK) aktivitását (Park és mtsai 2001). A JNK jelpályán keresztül végbemenő gyulladási folyamatok kiemelt szerepet játszanak az IR kialakulásában (Hirosumi és mtsai 2002). HSP72 hiányában az IRS-1 307-es szerin foszforilációja fokozódik, az inzulin jelátvitel csökken (Hotamligil 2006). A HSP-k aktivációjával jelentős mértékben fékezhető a JNK működése (Park és mtsai 2001) és ez védelmet jelenthet az IR kialakulásával szemben (Chung és mtsai 2008). Chung és munkatársai ob/ob egerekben azt találták, hogy a BGP-15 a HSP72 aktiválásán keresztül megelőzte a c-jun N-terminális kináz (JNK) – szerin/treonin kináz aktivitású enzim - foszforilációját és az inzulinrezisztencia kialakulását.

A hő sokk faktor-1 (HSF-1), a HSP-k és a gyulladási citokinek jelentősége az inzulinhatás károsodásában, valamint szerepük a 2DM patogenezisében csak nemrég vált közzismertté (Hooper és Hooper 2009). A hidroximisav származékok chaperone-koindukciós hatása a transzkripciós faktor aktivitással rendelkező HSF-1-el létrejövő direkt kapcsolaton keresztül valósul meg. A DNS response eleméhez történő kötődést stabilizálják és megnyújtják, ezáltal fokozzák a HSP-k expresszióját (Gombos és mtsai 2011).

2DM-ben nemcsak a HSP72, hanem a nitrogén-monoxidot (NO) termelő konstitutív nitrogén-monoxid szintáz (cNOS) enzim aktivitása is csökkent (Shankar és mtsai 2000, Kashyap és mtsai 2005). Az NO termelés mellett fokozódik a HSP expresszió, míg a NOS gátlása csökkent HSP szinthez vezet (Malyshev és mtsai 1995). A NOS-gátló N^G -nitro-L-arginin-metil-észter (L-NAME) szignifikánsan csökkenti az inzulinmediált glükózfelvételt az izomban és a zsírszövetben (Roy és mtsai 1998), továbbá mind az endothelialis (eNOS), mind a neuronális NOS (nNOS) gének célzott kiütésével IR alakul ki (Shankar és mtsai 2000).

A BGP-15 *in vitro* körülmények között mind az endoteliális, mind a neuronális NOS aktivitását növelte (Kolonics és mtsai 2004, Kolonics és mtsai 2006), melyből arra következtettünk, hogy a BGP-15-t újabb indikációs területen, az IR szindrómában kell vizsgálni.

A gyógyszervárományos molekulák sorsát a preklinikai vizsgálatok után a humán fázisú vizsgálatok döntenek el.

A fázis I vizsgálatok klinikofarmakológiai vizsgálóhelyen, egészséges önkénteseken végzett vizsgálatok, melyek elsődleges célkitűzése: biztonsági, tolerancia adatok nyerése, másodlagos célkitűzései: farmakokinetikai sajátosságok felmérése, humán metabolizmus utak felderítése, esetleg kezdeti bepillantás a farmakodinamikai tulajdonságokba. A fázis I vizsgálatok fontos része a farmakokinetikai (PK) vizsgálat, ezen belül is a megváltozott PK viszonyok vizsgálata speciális populáción, azaz máj-, vesebetegek, illetve időskorúak vizsgálata (Gacsályi és Lakner 2007).

Állatokon végzett toxikológiai vizsgálatok eredménye alapján a BGP-15 nem toxikus, vér-agy gáton csak kismértékben jut át, nincs aktív metabolitja. A szervezetből a vizelettel ürül. Az egy dózisú, orális BGP-15 kezelés során az egészséges önkéntesek jól tolerálták az 50 mg-tól a 800 mg-ig terjedő dózisokat. 250 mg-nak a felezési ideje kb. 2 óra. Vitális jelekben, az EKG, valamint a laboratóriumi vizsgálatok során jelentős eltéréseket nem tapasztaltunk.

A 7 napig tartó 250 mg, illetve 600 mg dózisokkal végzett ismételt adagolásnál azonban tinnitust, valamint enyhe egyszeri előfordulású szédülést, pitvari extraütést, illetve hasmenést észleltünk. A sikeres fázis I vizsgálatokat és az OGYI (ma már GYEMSZI) értékelését követően került sor a molekula humán fázis II vizsgálatára. A fázis II vizsgálatok a gyógyszerjelölt humán farmakodinámiai megmérettetését, a terápiás hatékonyság feltérképezését, a dózis-hatás viszony tájékozódó jellegű megállapítását célozzák. Feltáró (exploratív) vizsgálatokról van szó, amelyek nemegyszer a gyógyszerjelölt fejlesztésének további sorsát határozzák meg, ezért a fázis II vizsgálatok eredményei úgynevezett “go - no go” kritériumként szolgálnak a klinikai gyógyszerfejlesztésben (Gacsályi és Lakner 2007).

3. CÉLKITŰZÉSEK

A 2DM manifesztációjának megakadályozása céljából döntő fontosságú az anyagcserezavar korai felismerése, diagnózisa és megfelelő kezelése.

Célunk volt a szénhidrát-anyagcsere/energiaháztartás és a csontállapot közötti összefüggések és az összefüggések terápiás hasznának vizsgálata. Kerestük a kapcsolatot az inzulinérzékenység és a csontsűrűség között, és a változó glükóztolerancia hatását erre a kapcsolatra. Amennyiben az inzulinrezisztencia javítása a csontképzés fokozódását eredményezi, az inzulinérzékenyítő roziglitazon terápia miért növeli a csonttörések kockázatát? Arra kerestük a választ, hogy prediabéteszes állapotban a csonttörés kockázata az inzulinérzékenység változásával, vagy ettől függetlenül, csak a gyógyszerre jellemző mellékhatással függ-e össze.

Célul tűztük ki, hogy az inzulinrezisztenciát, valamint a prediabétesz stádiumát tükröző különböző állatmodelleken (nyúl, patkány) vizsgáljuk az új hatásmechanizmusú, hősokkfehérje-inducer aktivitással rendelkező BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását, valamint ezt a hatást összehasonlítsuk a klinikumban használt antidiabetikumokkal.

Diabéteszes patkány modellen kívántuk tanulmányozni a BGP-15 endotél diszfunkcióra kifejtett hatását.

Célunk volt továbbá az új hatásmechanizmusú, inzulinrezisztenciát javító molekula, a BGP-15 klinikai vizsgálata, tesztelése inzulinrezisztens önkénteseken.

Egészséges önkénteseken kívántuk vizsgálni a BGP-15 hatását a mindennapos gyakorlatban használt antipszichotikum, az olanzapin inzulinrezisztenciát okozó mellékhatására. Állatkísérletek eredményei szerint ugyanis a BGP-15 kedvezően befolyásolta az olanzapin által kiváltott metabolikus károsodást.

4. MÓDSZEREK

4.1. ÁLLATKÍSÉRLETEK

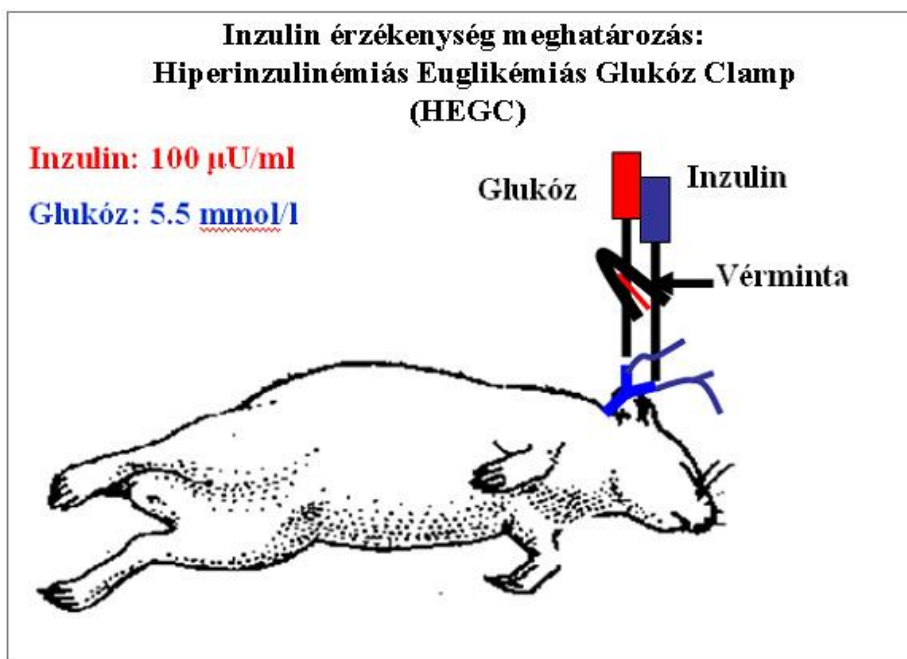
A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását 3-3.5 kg súlyú, hím, új-zélandi fehér nyulakon, valamint hím, 220-320 g súlyú inzulinrezisztens Goto-Kakizaki (GK) patkányokon vizsgáltuk. A BGP-15 vazorelaxációra (aorta thoracica) kifejtett hatásának vizsgálatát *ex vivo*, 270-290 g súlyú hím Sprague-Dawley patkányok aortáján végeztük. Az állatszobákban 12-12 órás sötét-világos periódusok követték egymást, a levegő hőmérsékletét 22-25 C°-on tartottuk, 50-70%-os páratartalom mellett. Az állatoknak szabad hozzáférésük volt a laboratóriumi táphoz és csapvízhez. Két hét akklimatizálódás után kezdtük a kezeléseket.

4.1.1. Izolált aorta thoracica készítése *ex vivo* vazorelaxáció vizsgálatához

A Sprague-Dawley patkányokat nátrium-pentobarbitállal (Nembutal®, Sigma, 60 mg/kg) altattuk el. Thoracotomiát követően eltávolítottuk az aorta thoracicát és azt jeges Krebs oldatba (118.0 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.52 mM CaCl₂, 1.64 mM MgSO₄, 24.88 mM NaHCO₃, 1.18 mM KH₂PO₄, 11.0 mM glükóz) helyeztük, melyet folyamatosan 95% O₂-t, 5% CO₂-t tartalmazó gázkeverékkel áramoltattunk át. A kivett aortaszakasz leszálló (deszcendens) ágából 5 mm széles gyűrűket vágunk azért, hogy meghatározhassuk az izometriás feszülést. A gyűrűpreparátumokon (n=4) először 2 grammos súllyal előterhelést végeztünk (nyugalmi állapot), miközben a szövetet végig 10 ml-es oxigenizált 37°C -os Krebs oldatos (pH=7.4) szervfürdőben tartottuk. A prekontrakciót 10⁻⁶ M fenilefrinnel váltottuk ki. A maximális kontrakciót előzetesen emelkedő dózisu fenilefrin alkalmazásával határoztuk meg. A maximális vazorelaxációt úgy váltottuk ki, hogy a prekontrahált érpreparátumhoz emelkedő dózisu acetilkolinadtunk (ACh, 10⁻⁹-10⁻⁵ M). A feszülés meghatározásához Isosys rendszert használtunk (EXP-D izolált szerverősítő rendszer, AIF-01 számítógép adapter, Experimetria Kft., Budapest). A relaxációs válaszokat a fenilefrin-kontrakcióhoz viszonyítottan, százalékban fejeztük ki.

4.1.2. Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC)

A teljes test inzulinérzékenységének meghatározását HEGC módszerrel végeztük (Porszász és mtsai 2003). A testállatok artéria carotis externájába és véna jugulárisába kanült (Vygonüle V 22, Vygon GmbH & Co., Aachen, Germany) helyeztünk (4. ábra). Körülbelül 120 percen keresztül egyszerre humán inzulint (Actrapid; Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark) és 20%-os glükóz oldatot infundáltunk a vénás oldalon Y elosztó közbeiktatásával. Az állandó inzulin infúziós sebességgel (13-15 mU/kg/min) 100 ± 5 μ U/ml-es hiperinzulinémiát biztosítottunk. A glükóz infúzió sebességét úgy választottuk meg, hogy az artériás vércukor koncentráció 5.5 ± 0.5 mmol/l (euglikémia) legyen. A vércukor értéket 10 percenként az artériából levett vérmintákból tesztsíkkal (AccuChek, Roche, Switzerland) határoztuk meg. Ha a vércukorszint 20-30 percig 5.5 ± 0.5 mmol/l értéken stabilizálódott, kialakult a „steady state” (egyensúlyi) állapot, melyben a felvett glükóz mennyisége mutatta az inzulinszenzitivitás mértékét (DeFronzo és mtsai 1979), (melyet a humán vizsgálatok során M-értéknek neveznek). A steady-state ideje alatt 10 percenként további három vérmintát vettünk a plazma inzulinszint meghatározásához. Minden clamp vizsgálatot 12 órás éhezés után végeztünk el. A HEGC vizsgálatot minden alkalommal a kezelés megkezdése előtt és a kezelés után 4-6 órával végeztük.



4. ábra: Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp sematikus ábra

4.1.3. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata normál és hiperkoleszterinémiás nyúlon

Az állatokat két csoportra osztottuk. Nyolc héten keresztül az egyik csoportot 1.5%-os koleszterin tartalmú zsírdús táppal (hiperkoleszterinémiás csoport), míg a másikat normál táppal (normál csoport) etettük. Mindkét csoportot a kezelési karok szerint további hat csoportra osztottunk: az aktív csoportban lévő nyulak 5 napon keresztül napi 5, 10, 20, 30 és 50 mg/kg per os BGP-15 (N-GENE Kutatási és Fejlesztési Kft. Budapest, Hungary) kezelésben részesültek. A kontroll csoport nem kapott BGP-15-öt. Karonként 6 nyúl vett részt a vizsgálatban.

4.1.4. A BGP-15, roziglitazon és metformin inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata Goto-Kakizaki patkányokon

A BGP-15, a roziglitazon (Avandia®, SmithKline Beecham plc, Brentford Middlesex, U.K.) és a metformin (Adimet®, Ratiopharm, Hungary) inzulinérzékenyítő hatását vizsgáltuk kontroll csoporthoz viszonyítva. 5 napig kezeltük az állatokat napi egyszer 5, 10, 20 és 30 mg/kg per os BGP-15-el, napi egyszer 2 mg/kg per os roziglitazonnal és napi egyszer 100 mg/kg per os metforminnal. A kontroll csoport 1ml fiziológiás sóoldatot kapott. Karonként 6 állat vett részt a vizsgálatban.

4.1.5. A BGP-15 aorta relaxációra kifejtett hatása normál és streptozotocinnal előkezelt patkányokon (*ex vivo*)

Napi egyszeri, 20 és 50 mg/kg per os BGP-15 kezelés hatását hasonlítottuk össze napi egyszeri, 4 mg/kg per os roziglitazon terápiával streptozotocin (STZ) -indukált diabéteszes Sprague-Dawley patkányokon kezeletlen kontroll csoporthoz képest. A kezelés 5 napig tartott. A streptozotocinnal indukált diabéteszes állatok 12-14 héttel a kezelés előtt 50mg/kg streptozotocint kaptak intravénásan, melyek közül azokat

tekintettük cukorbetegnek, akiknek a vércukorszintjük 20 mmol/l fölé emelkedett. A vizsgált állatok száma csoportonként a következőképpen tevődött össze: Kontroll (n=18), STZ (n=17), STZ + BGP-15 (20 mg/kg) (n=20), STZ + BGP-15 (50 mg/kg) (n=6), STZ + Roziglitazon (n=15).

4.2. HUMÁN VIZSGÁLATOK MÓDSZEREI

4.2.1. Vizsgált személyek

4.2.1.1. A korai glükózanyagcsere zavar vizsgálata

Intézetünkben HEGC technika alkalmazásával 291 személyen meghatároztuk a perifériás szövetek (teljes test, izom-, zsírszövet) glükózfelhasználását és vizsgáltuk a különböző anyagcsereparaméterekkel {orális-, intravénás glükóz tolerancia tesztek (IvGTT) során mért, glükóz és inzulin koncentrációk görbe alatti területe (AUC-k), testtömegindex (BMI), triglicerid- és összkoleszterinszintek} mutatott kapcsolatát. Vizsgálatunkban 18 és 60 év közötti férfiak és nők vettek részt, akik tájékoztatásukat követően írásos beleegyezésüket adták a vizsgálathoz. A vizsgált személyek glükóztolerancia alapú besorolását az orális glükóztolerancia teszt (OGTT) segítségével végeztük. Egészséges, normál glükóztoleranciájú személyeket az NGT, a csökkent glükóztoleranciájú, angol rövidítéssel IGT-s (Impaired Glucose Tolerance) vagy IFG-s (Impaired Fasting Glucose) egyéneket a glükóz intoleráns csoportba (GI), míg a kezelést még nem igénylő cukorbetegeket a 2DM csoportba soroltuk. Vizsgálatunk központi etikai engedéllyel rendelkezett (ETT-TUKEB engedély sz. 12988-2/2003-1018-EKU).

4.2.1.1.1. *Az IR és a csontanyagcsere kapcsolatának humán vizsgálatai*

A progrediáló inzulinrezisztencia hatását vizsgáltuk a glükózanyagcsere és a csontállapot kapcsolatára 20 anyagcsere egészséges (NGT) és 51 glükóz intoleráns (GI) nőben. Férfiakban is vizsgáltuk a csont - és glükózanyagcsere közötti kapcsolatot. A vizsgálatban 22 normál glükóztoleranciájú (NGT), és 39 glükóz intoleráns (GI) férfi vett részt.

4.2.1.2. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata inzulin rezisztens személyeken

A vizsgálatot az N-Gen Inc (szponzor) megbízásában, a DRC (Drug Research Center) Kft-ben végeztük a GCP (Good Clinical Practice) Helsinkai Deklaráció irányelvei szerint. A vizsgálati protokollt az OGYI (Országos Gyógyszerészeti Intézet), és az ETT (Étikai Tudományos Tanács) engedélyezte (OGYI Eng.sz: 4837/40/05).

A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának mérése IvGTT, HEGC, és HOMA-IR módszerek alkalmazásával történt. A vizsgálatba inzulinrezisztens (HOMA-IR > 2.5) 25 és 60 év közötti férfiakat és posztmenopauzában lévő, vagy hisztarektómián átesett nőket kerestünk.

Az orális glükóztolerancia teszt (OGTT) eredménye alapján az önkéntesek emelkedett éhomi (IFG), csökkent glükóztoleranciájú (IGT) és gyógyszeres kezelést nem igénylő diabéteszes (2DM) csoportot képeztek. Az elsődleges végpont a teljes test (M-1 érték) és az izomszövet glükózfelhasználásának (M-2 érték) 0. és a 28. nap közötti változása volt. A másodlagos végpontok a HOMA-IR, a HOMA-BCF értékek, valamint az IvGTT során mért inzulin AUC értékek változásai voltak. Továbbá mértük a plazma szabad zsírsav- (FFA), inzulin- és glicerolszintek változásait is.

Beválogatási kritériumok:

1. 25-60 év közötti férfi és posztmenopauzában lévő, vagy hisztarektómián átesett nő
2. Károsodott szénhidrát-anyagcsere inzulinrezisztenciával:
 - a. IFG: $7.0 \text{ mmol/l} > \text{é h o m i} < 5.6 \text{ mmol/l}$
 - b. IGT: $\text{é h o m i} < 7.0$ és az OGTT 120 perces értéke $< 11.1 \text{ mmol/l}$
 - c. Inzulinrezisztencia HOMA-IR-rel meghatározva > 2.5
3. Abdominális elhízás: derék-csípő hányados > 0.9 férfiakban vagy > 0.85 nőkben, vagy a BMI > 27
4. Aláírt beleegyező nyilatkozat

Kizárási kritériumok:

1. 1-es típusú diabétesz mellitusz
2. Gyógyszerrel kezelt 2-es típusú diabétesz mellitusz

3. Kezeletlen hipertónia (szisztolés RR> 160 Hgmm, diasztolés RR> 95 Hgmm). Azok a betegek, akiknél a vizsgálat megkezdése előtti 6 hónapon át nem változtattak az antihipertenzív terápiájukon, illetve vérnyomásuk nem haladta meg a 160/95 Hgmm értéket, alkalmasak voltak.
4. A nitrogén-monoxid rendszert (molszidomin, szildelafil, tadalafil), vagy a szénhidrátháztartást befolyásoló (glukokortikoidok, thiazidok) gyógyszerek szedése
5. β -blokkolók szedése (kivéve, ha 6 hónapja nem változtatott a dózison)
6. Nitrát kezelés
7. NYHA III-IV std. szívelégtelenség, malabszorpciós sy., gasztrointesztinális bypass műtét, akut vagy krónikus pankreatitisz
8. GPT >2.5-szerese a normál érték felső határának
9. Se kreatinin >135 μ mol/l
10. Anémia (hematokrit< 0.3)
11. Aktív gyulladásos betegség
12. Az elmúlt 5 évben malignoma az anamnézisben (kivéve a bőr bazálsejtes karcinómája)
13. Terhesség, szoptatás, vagy hormontartalmú fogamzásgátló szedése
14. Alkohol- vagy drogfüggőség
15. Más szisztémás megbetegedés, gastroenterológiai, urogenitális, légzőszervi, váz- és izomrendszeri, immunológiai megbetegedés

A 28 napos vizsgálatban 3 kezelési csoport (200 mg, 400 mg, placebo) vett részt. Az IvGTT és a HEGC vizsgálatok a 0. és a 28. napon történtek. A vizsgálatokat megelőző 10 órás éhezés biztosítása miatt az önkéntesek már az előző napon befeküdtek a vizsgálóhelyre miután a DEXA testösszetétel mérése megtörtént. Az életfunkciók vizsgálatát (légzésszám, pulzus, vérnyomás mérése), az EKG-t, a fizikális vizsgálatot és a nemkívánt mellékhatások rögzítését a szűréseken (-14. és -1. nap között), befekvések alkalmával (-1. és 27. napon), valamint az ellenőrző (7., 14., 21. napon) és az elbocsátó (follow up) viziten (35. napon) végeztük. A laborvizsgálatok a szűréskor, az IvGTT-k megkezdése előtt és az ellenőrző vizitek alkalmával történtek.

4.2.1.3. A BGP-15 hatása az olanzapin által okozott inzulinrezisztenciára

A vizsgálatot az N-Gene Inc (szponzor) megbízásában, a DRC (Drug Research Center) Kft-ben végeztük a GCP (Good Clinical Practice) Helsink Deklaráció irányelvei szerint. A vizsgálati protokollt az OGYI (Országos Gyógyszerészeti Intézet), és az ETT (Etikai Tudományos Tanács) engedélyezte (OGYI Eng.sz: 10568/82/2007).

Egészséges önkénteseken vizsgáltuk a BGP-15 hatását az olanzapin okozta inzulinérzékenység változására és a testsúlyváltozásra, valamint vizsgáltuk a két szer farmakokinetikai interakcióját. A vizsgálat kettősvak, randomizált, placebo kontrollált vizsgálat volt, ahol az egészséges önkéntesek mindkét csoportban kezdetben 3 napig 5 mg, majd 14 napig 10 mg olanzapin, plusz placebo vagy 400 mg BGP-15 kezelésben részesültek.

Az elsődleges végpont a 0-tól 24 óráig gyűjtött steady-state olanzapin plazmakoncentrációjának görbe alatti területe volt (AUC_{ss}). A másodlagos végpontok pedig a testsúlyváltozás, az M-értékek, valamint a HOMA-IR és a HOMA-BCF értékek változásai voltak az első és a 18. nap között.

A vizsgálatba 18 és 55 év közötti, normál szénhidrát-anyagcseréjű és fizikális vizsgálat alapján egészséges önkénteseket (férfiak és menopauzán, vagy hiszterektómián átesett nők) kerestünk.

Beválasztási kritériumok:

- 18 és 55 év között férfi és nő (menopauza utáni állapot, hiszterektómián átesett, sebészi úton sterilizált)
- Normál szénhidrát-anyagcsere
- Normál fizikális státusz
- 5.6 mmol/l alatti éhomi vércukor
- BMI 23-28 kg/m²
- aláírt betegtájékoztató és beleegyező nyilatkozat

Kizárási kritériumok:

- Klinikailag szignifikáns társbetegség
- kórházi kezelés a közelmúltban
- elsőfokú rokon 1-es vagy 2-es típusú cukorbetegsége

- korábbi antipszichotikus gyógyszeres kezelés
- terhesség, szoptatás
- alkohol- vagy drogfogyasztás
- dohányzás
- olanzapin vagy nikotinsav túlérzékenység
- részvétel más klinikai vizsgálatban 3 hónapon belül
- gyógyszeres kezelés 14 nappal a vizsgálat indulása előtt
- véradás 6 héten belül
- sportolás professzionális szinten
- bármilyen diéta, mely eltér a normál fehérje-, szénhidrát-, zsírbeviteltől (vegetáriánus étrend)
- bármilyen klinikailag szignifikáns lelet a szűrő vizit során (a vizsgáló döntése szerint)
- bármilyen betegség az anamnézisben, mely befolyásolja az önkéntes egészségét a vizsgálat során
- az együttműködési szándék előre látható hiánya

Az önkéntesek a HEGC vizsgálat előtti este fekdtek be a fázis 1 vizsgálóhelyre, miután a DEXA testösszetétel mérése megtörtént. Este könnyű vacsorát kaptak, majd másnap reggel 10 órás éhezés után (D1) rutin laborvizsgálat, vérnyomásmérés, EKG, intravénás glükóztolerancia teszt és a hiperinzulinémiás euglikémiás clamp teszt következett. Az első nap este fázis 1 vizsgálóhelyen kapták az első adag olanzapint (5mg per os) és 400 mg BGP-15-öt, vagy placebót. A vizsgálati készítmények bevitelére este fél tízkor került sor. A 4. naptól a kezelési időszak végéig (D17) az önkéntesek 10 mg olanzapint szedtek. A 7. napon az önkénteseknek egy rutin vizitre kellett visszajönni, amikor a visszahozott tabletták és kapszulák darabszámából derült ki együttműködési hajlandóságuk, ekkor kapták meg a következő 8 napra elegendő vizsgálati készítményt. A 15. napon délután az önkéntesek ismét befeküdtek a fázis 1 vizsgálóhelyre és az esti gyógyszer bevétele (21:30) után 24 órán keresztül a farmakokinetikai vérminták levétele történt. A 17. napon került sor a második DEXA (testösszetétel) mérésre. A 18. napon, mintegy 10 órával az utolsó vizsgálati készítmény bevétele után rutin laborvizsgálat,

vérnyomásmérés, EKG, intravénás glükóztolerancia teszt és hiperinzulinémiás euglikémiás clamp teszt következett.

A clamp után az önkéntesek ebédet kaptak, majd ebéd után egy órával, amennyiben vércukruk nagyobb volt, mint 5.0 mmol/l elhagyhatták a vizsgálóhelyet.

4.2.1.4. Nemkívánatos események

Mindkét klinikai vizsgálat során nemkívánatos eseménynek (adverse event) minősültek a következők: a beteg vagy a vizsgálati alany szervezetében fellépő minden olyan kedvezőtlen (klinikai, laboratóriumi vagy egyéb) változás, mely az adott gyógyszer alkalmazása során jelentkezett, függetlenül attól, hogy volt-e összefüggés a gyógyszer alkalmazása és az esemény között.

Súlyos nemkívánatos esemény és súlyos nemkívánatos gyógyszerhatás (Serious Adverse Event, SAE; Serious Adverse Drug Reaction, Serious ADR) bármely orvosilag kedvezőtlen jelenség, mely bármely gyógyszeradagnál:

- halált okoz
- az életet veszélyezteti
- kórházi kezelést tesz szükségessé vagy a már folyamatban levő kórházi bentfekvés meghosszabbodásához vezet
- tartós vagy jelentős rokkantságot/munkaképtelenséget okoz

vagy

- fejlődési/veleszületett rendellenességet okoz (Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting című ICH irányelvei 1995).

4.2.2. Vizsgálati módszerek

4.2.2.1. Orális glükóztolerancia teszt (OGTT)

A 75g glükózzal végzett OGTT értékelését az Amerikai Diabétesz Társaság (ADA) vénás vérmintákra vonatkozó kritériumai alapján végeztük (American Diabetes Association 2006). Az OGTT végzésekor a vizsgálandó személy a terhelést megelőző 3 napon legalább 150 g szénhidrátot tartalmazó étrendet fogyasztott, a teszt előtti 12 órában már nem evett. A 0. perces vérminta levétele után, 250 ml vízben oldott 75g glükózt tartalmazó oldatot ivott, majd ezt követően a 30., 60., 90., 120. percben vettünk vérmintát.

2DM cukorbeteg az, akinek az éhomi vércukra magasabb, vagy egyenlő, mint 7.0 mmol/l (126 mg/dl), vagy az OGTT 2 órás értéke ≥ 11.1 mmol/l (200 mg/dl).

IFG (Impaired Fasting Glucose) csoport éhomi vércukra a normális és diabétesz közötti területre esik: 6.1- 6.9 mmol/ (110-125 mg/dl), de az OGTT 2 órás értéke < 7.8 mmol/l (140 mg/dl).

IGT (Impaired Glucose Tolerance) a csökkent glükóztolerancia kórképe, az éhomi vércukor: kisebb mint 7.0 mmol/l (126 mg/dl) és a 2 órás OGTT vércukor értéke: 7.8 – 11.0 mmol/l (140-200 mg/dl) között van.

4.2.2.2. Homeostasis model assessment (HOMA)

A HOMA indexet a világon széleskörben alkalmazzák az inzulinérzékenység meghatározására (Matthews és mtsai 1985). Az éhomi vércukor és inzulinkoncentráció számításával mind az inzulinrezisztenciáról (HOMA-IR), mind a β -sejt működéséről tájékoztat (HOMA-BCF).

A HOMA-IR értéket a következőképpen kapjuk: $HOMA-IR = [\text{éhomi inzulin (mU/L)} \times \text{éhomi glükóz (mmol/L)}] / 22.5$. Minél magasabb a HOMA-IR érték, annál súlyosabb az inzulinrezisztencia.

A β -sejt működéséről a HOMA-BCF érték számításával kapunk tájékoztatást: $HOMA-BCF = 20 \times \text{éhomei inzulín (mU/L)} / [\text{éhomei glükóz (mmol/L)} - 3.5]$ (Haffner és mtsai 1997).

4.2.2.3. Intravénás glükóztolerancia teszt (IvGTT)

Intravénás glükóztolerancia tesztet (IvGTT) a glükóz által kiváltott inzulinszekréció mérésére használtuk, ugyanis az intravénás glükózterhelés során a glükóz felszívódásából adódó bizonytalanság és a bélhormonok (inkretinek) okozta hatások elkerülhetők. Az IvGTT során az önkéntesek 12 óra éhezést követően 0.3g/kg 40%-os glükózt kaptak iv. bólusban, a vérvételek a 0., 3., 5., 10., 15., 20., 30., 40., 50., 60. percben történtek (glükóz, inzulín, szabad zsírsav (FFA) meghatározásra). Az IvGTT-t közvetlenül a HEGC előtt végeztük.

4.2.2.4. Hiperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC)

A De Fronzo által kidolgozott technika (DeFronzo és mtsai 1979) lényege, hogy azt a cukormennyiséget mérjük, amelyik a folyamatos inzulín infúzióval biztosított hiperinzulinémia idején (steady-state hiperinzulinémia) egy előre meghatározott értéken tartósan stabilizálja a vér cukorszintjét. Esetünkben ez az 5.5 ± 0.5 mmol/l (normoglikémia) szintet jelentette. A hiperinzulinémia (70-100mE/l) következtében az endogén inzulinszekréció és a hepatikus glükózprodukciónak elhanyagolható szintre csökken. Egészséges emberben az endogén inzulínválasztás az első 60 perc alatt kb. 50%-kal, az endogén glükózprodukciónak pedig az első 20 perc alatt kb. 95%-kal csökken. Ebben az állapotban az állandó vércukorszintet biztosító kívülről bejuttatott glükóz mennyisége egyenlő a szervezet cukorfelvételével.

A vizsgálati személy mindkét alkarjába vénás kanült helyeztünk, majd az IvGTT-re került sor. Ennek befejezése után kezdtük a HEGC-et. Az egyik oldali kanülbe kötöttük a glükóz és az inzulín infúziót egy Y elosztó közbeiktatásával, míg a másik oldali kanül a mintavételezésre szolgált. A pontosabb vércukorértékek mérésének biztosításához

ezen oldali alkart 37°C-ra melegítettük (Kanmed OP-200, KanMed AB, Bromma, SWEDEN). Az inzulin-, és a 20%-os glükózoldatot egyszerre indítottuk.

A testfelszínre számolt kezdő inzulinmennyiséget (229.68 mU/m²/min) az adag logaritmikus (percenkénti) csökkentésével a 10. percre 72 mU/m²/min-re vittük le infúziós pumpa (Asena Alaris GH Alaris Medical, Warwickshire, United Kingdom) segítségével, majd változatlan sebességgel folytattuk maximum 360 percen keresztül. A normoglikémiás vércukorérték fenntartását (5.5 ± 0.5mmol/l) a 20%-os glükóz infúzió sebességének változtatásával 5 percenkénti vércukor ellenőrzéssel értük el, melynek meghatározását HemoCue glükóanalizátorral (HemoCue AB, Angelholm, Sweden) végeztük, 30 percenként pedig inzulin, szabad zsírsav (FFA) meghatározásra vettünk vért. A normoglikémiás időszak stabil utolsó 30 percében (ún. steady-state állapot) az euglikémia fenntartásához szükséges glükóz mennyisége megegyezik a teljes test cukorfelvételével. A steady-state állapot alatt felvett glükóz mennyiségéből számoljuk az inzulinszenzitivitás mértékét, az M-értéket.

A kompartmentális cukorfelvétel meghatározáshoz az éhomi állapotban DEXA-val (dual-energy x-ray absorptiometry, Lunar DPX) mért testösszetételt használtunk, ugyanis a DEXA egyaránt alkalmas zsírtömeg, izomtömeg meghatározására. Kiválasztott steady-state állapotra jellemző és a számoláshoz szükséges adatok: delta t (steady-state szakasz ideje percben), induló vércukor (vc), záró vércukor, pumpasebesség, glükóz oldat koncentrációja (cc), testsúly (ts) (5. ábra).

$$M = \frac{\text{pumpa sebesség (ml/h)} \times \text{glükóz oldat cc. (mg/ml)}}{60} + \text{induló vc (mg/dl)} - \text{záró vc (mg/dl)} \times \frac{\text{ts (kg)}}{3} \times \frac{1}{\text{delta t} \times 1000} \times \frac{1}{\text{ts}}$$

5. ábra: Az M-érték számításának képlete (DeFronzo és mtsai 1979)

Megjegyzés: a testsúly kg / 3 az extracelluláris teret jelenti deciliterben.

M-1 érték = teljes testtömeg glükózfelhasználás (mg/kg/min).

M-2 érték = izomtömegre vonatkoztatott glükózfelhasználás (mg/kg izom/min) - a képlet ugyanaz, mint az M-1, csak a testsúly helyett a DEXA-val meghatározott izomtömeget használjuk.

M-3 érték = zsírszövetre vonatkoztatott glükózfelhasználás, a DEXA-val meghatározott zsírtömeget használjuk (mg/kg zsír/min).

4.2.2.5. Kettős röntgensugár abszorpciometria (DEXA)

A testösszetétel, az izom- és zsírszövet arányának meghatározására, valamint a lumbális csigolyák (L₁₋₄) és a femurnyak denzitásának (BMD) mérése DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry, Lunar DPX) készülékekkel történt.

4.2.2.6. Csontépítést-csontbontást jellemző BMU index

A BMU index a csontépítés és csontbontás ismert laboratóriumi markereiből általunk képzett hányados, a BMU (bone metabolic unit) „aktivitásának” jellemzésére. A csontformációs és reszorpciós markerek szorzatának hányadosa:

$$(\text{OPG} \times \text{P1NP}) \times (\beta\text{-crosslaps} \times \text{katepszin-K} \times \text{sRANKL})^{-1},$$

ahol az OPG (oszteoprotegerin - oszteoklaszt gátló glikoprotein) és a P1NP (1-es típusú prokollagén amino-terminális propeptid) mint csontformációs, a β -crosslaps (1-es típusú kollagén C terminális telopeptid), a katepszin-K (oszteoklaszt cisztein proteáz) és az sRANKL (oszteoprotegerin ligand: szolubilis receptoraktivátor NF-kB ligand), mint csontreszorpciós marker szerepel.

4.2.2.7. Biokémiai vizsgálatok

A rutin laboratóriumi vizsgálatokat (hematológia: Cobas Micros, Roche, France, illetve a biokémia: Hitachi 912, Japan) standard mérési módszerekkel határoztuk meg. A szabad zsírsav (FFA), és glicerol meghatározásokat Cobas Mira analizátor (Roche, Basel, Switzerland) segítségével végeztük. A szérum inzulint, tesztoszteront, ösztradiolt, dehidroepiandrosteront (DHEAS), follikuláris stimuláló hormont (FSH), oszteokalcint, β -crosslaps-t és 1-es típusú prokollagén amino-terminális propeptidet (P1NP) electrochemiluminescent-immunoassay módszerrel (Elecsys, Japan), a szérum leptin, rezisztin, katepszin K, oszteoprotegerin (BioVendor, Brno, Czech Republic), és adiponektin, sRANKL (BioCat GmbH., Heidelberg, Germany) szinteket ELISA módszerrel mértük meg.

4.2.2.8. Farmakokinetikai vizsgálatok

A BGP-15 - olanzapin kombináció farmakokinetikai interakció vizsgálatakor az egészséges önkéntesektől az alábbi időpontokban vettünk vért: 0 h (predose), 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 3 h, 3.5 h, 4 h, 4.5 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 16 h, 24 h. A 24 órás PK mintagyűjtés a 15. nap este a vizsgálati készítmények bevétele után kezdődött és a 16. napon fejeződött be. A gyógyszerszinteket tömegspektrométerrel határoztuk meg (HPLC-MS/MS).

4.3. STATISZTIKAI ANALÍZISEK

Az állatkísérletek során kapott eredmények kiértékelését egyutas varianciaanalízissel (one-way ANOVA) és ezt követően Bonferroni post-hoc analízissel végeztük (Wallenstein és mtsai 1980). Az eredményeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha a $p \leq 0.05$ volt.

Spearman-féle kétváltozós korrelációval határoztuk meg az M-érték és az anyagcsereparaméterek (BMI, a terheléses tesztek során kapott glükóz- és inzulinszintek AUC értékei, májenzimek, koleszterin, triglicerid értékek) összefüggéseit (IBM SPSS Statistics 19).

Kiértékeléseinkben szignifikánsnak tekintettük a $p < 0.05$ értékeket. Az ettől eltérő vagy az adatok feldolgozását javító speciális módszereket a megfelelő fejezetben tárgyalom.

Az úgynevezett „feature selection” analízis során az oszteokalcinnal kapcsolatban álló változók (67 db) sorrendiségének meghatározását Relief nevű algoritmus szerint, 10-szeres keresztvalidálással, Weka adatkezelő szoftver segítségével végeztük. Ezt a szakirodalomban „variable ranking”-nak is nevezik (Guyon és Elisseeff 2003).

A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását igazoló 28 napos klinikai vizsgálatban az elsődleges végpontok (M1-2) a kiindulási ponttól (baseline) mutatott változásait mindhárom kezelt csoportban (placebo, 200mg és 400mg BGP-15) egyutas ANOVA varianciaanalízissel számoltuk. A két aktívan kezelt és a placebo kar közötti különbség szignifikanciáját is e módszerrel állapítottuk meg.

Másodlagos végpontként, a HOMA-IR, a HOMA-BCF és az IvGTT során kapott inzulinszintek (görbe alatti területének, AUC_{0-1h}) a kiindulási ponttól mutatott eltérését ANCOVA kovariancia analízissel számoltuk.

Csak azon a vizsgálatban résztvevő személyek adatait értékeltük, akik a protokoll előírásai szerint befejezték a vizsgálatot, részt vettek mindkét clamp vizsgálatban (0. és 28. napon), és a visszahozott kapszulák száma alapján legalább 80%-os volt az együttműködésük (compliance).

A BGP-15 és az olanzapin együttes alkalmazásakor a 24 órán keresztül gyűjtött steady-state olanzapin plazmakoncentráció görbe alatti területét, mint elsődleges végpontot, trapezoid interpolációval határoztuk meg.

A vizsgálati csoportok közötti különbség 90%-os konfidencia intervallumát az AUC_{ss} átlagok logaritmikusan transzformált értékei adták. Az átlagértékek közötti (és a konfidencia határok közötti) különbséget (exponálással) visszaalakítottuk a geometriai átlagok arányába. A két szer közötti interakció hiánya akkor állt fenn, ha a geometriai átlagok közötti arány 90%-os konfidencia intervalluma 0.8 és 1.25 közé esett. A testsúlyváltozást ANCOVA kovariancia analízissel mértük, ahol a kezelés hatáserőssége és kiindulási értékek átlagai úgynevezett „kovariánsként” szerepeltek. Az M-, a HOMA-IR és HOMA-BCF értékek változását párosítatlan, kétmintás t-próbával határoztuk meg.

5. EREDMÉNYEK

A 2DM megelőzésére csak a betegség manifesztációja előtt, az újabban ismét „prediabétesznek” hívott időszakban elkezdett kezelések, és az életmód-változtatás nyújtanak lehetőséget. Ennek az időszaknak a megismerésére törekedtünk, hogy olyan diagnosztikus jeleket, lehetőségeket találjunk, amelyek esetleg az eddigiéknél olcsóbban, kisebb beavatkozással teszik lehetővé a prediabétesz felismerését. A betegséget megelőző időszak egyes jellegzetességeinek feltárása után kerestük a megoldást: egy olyan gyógyszeres kezelési lehetőséget, amely a megismert eltérés korrekcióját ígéri.

5.1. A SZÖVETI GLÜKÓZFELHASZNÁLÁS KAPCSOLATA AZ ANYAGCSERE MUTATÓKKAL

291 fős beteganyagban végzett felmérés szerint a teljes test (M-1), izomra (M-2) és zsírszövetre (M-3) korrigált glükózfelhasználás, és az OGTT, IvGTT glükóz és inzulin AUC-k, BMI, triglicerid- és összkoleszterinszintek között szignifikáns negatív korrelációt találtunk. Minél „jobb” a perifériás szövetek inzulinra adott válasza, annál kisebb a glükóz és inzulin görbe alatti terület a terheléses tesztekben. A BMI és a vérzsírok erős negatív kapcsolata mutatja a szoros összefüggést az inzulinrezisztencia, obesitas és hiperlipidémia között. Az M-3 inkább a nőknél mutat korrelációt az anyagcsere-paraméterekkel (2. táblázat).

2. TÁBLÁZAT: A SZÖVETI GLÜKÓZFELHASZNÁLÁS KAPCSOLATA AZ ANYAGCSERE MUTATÓKKAL

Korrelációk (szignifikancia szint)	BMI (kg/m ²)	OGTT-glu AUC	OGTT-inz AUC	IvGTT-glu AUC	IvGTT-inz AUC	koleszterin (mmol/l)	triglicerid (mmol/l)
M-1 (mg/kg/min) férfi+nő =291	-0.632 (p<0.0001)	-0.581 (p<0.0001)	-0.540 (p<0.0001)	-0.504 (p<0.0001)	-0.529 (p<0.0001)	-0.457 (p<0.0001)	-0.137 (p=0.02)
M-1 (mg/kg/min) férfi n=155	-0.607 (p<0.0001)	-0.568 (p<0.0001)	-0.412 (p<0.0001)	-0.512 (p<0.0001)	-0.484 (p<0.0001)	-0.233 (p=0.004)	-0.530 (p<0.0001)
M-1 (mg/kg/min) nő n=136	-0.634 (p<0.0001)	-0.588 (p<0.0001)	-0.619 (p<0.0001)	-0.499 (p<0.0001)	-0.593 (p<0.0001)	-0.400 (p<0.0001)	nincs kapcsolat
M-2 (mg/kg/min) férfi+nő=291	-0.684 (p<0.0001)	-0.544 (p<0.0001)	-0.517 (p<0.0001)	-0.512 (p<0.0001)	-0.513 (p<0.0001)	-0.403 (p<0.0001)	-0.148 (p=0.012)
M-2 (mg/kg/min) férfi n=155	-0.662 (p<0.0001)	-0.563 (p<0.0001)	-0.421 (p<0.0001)	-0.544 (p<0.0001)	-0.506 (p<0.0001)	-0.176 (p=0.029)	-0.494 (p<0.0001)
M-2 (mg/kg/min) nő n=136	-0.707 (p<0.0001)	-0.558 (p<0.0001)	-0.548 (p<0.0001)	-0.528 (p<0.0001)	-0.578 (p<0.0001)	-0.328 (p<0.0001)	nincs kapcsolat
M-3 (mg/kg/min) férfi+nő =291	-0.142 (p=0.016)	-0.339 (p<0.0001)	-0.207 (p<0.0001)	-0.205 (p<0.0001)	-0.255 (p<0.0001)	-0.254 (p<0.0001)	nincs kapcsolat
M-3 (mg/kg/min) férfi n=155	nincs kapcsolat	-0.295 (p<0.0001)	nincs kapcsolat	-0.211 (p=0.009)	nincs kapcsolat	-0.233 (p=0.004)	nincs kapcsolat
M-3 (mg/kg/min) nő n=136	-0.402 (p<0.0001)	-0.536 (p<0.0001)	-0.527 (p<0.0001)	-0.338 (p<0.0001)	-0.499 (p<0.0001)	-0.339 (p<0.0001)	nincs kapcsolat

korrelációs együtthatók

5.2. AZ IR ÉS A CSONTANYAGCSERE KAPCSOLATÁNAK HUMÁN VIZSGÁLATAI

5.2.1. A progrediáló inzulinrezisztencia hatása a glükózyanyagcsere és csontállapot kapcsolatára nők esetén

Az oszteoblasztokból származó oszteokalcin az inzulinszekréció fokozásában, illetve az inzulinérzékenység javításában az állatkísérletekben feltárt szerepe (Lee és mtsai 2007) motivált minket arra, hogy a prediabéteszben és korai 2DM-ben a csont- és a glükózyanyagcsere összefüggéseit megvizsgáljuk.

A csontok denzitása a 20 egészséges és az 51 glükóz intoleráns nő között nem különbözött (3. táblázat).

3. TÁBLÁZAT: CSONTOK ÁLLAPOTÁT JELZŐ DENZITÁS ADATOK, ÉS A CSONTÁTÉPÜLÉST JELZŐ MARKEREK

	Anyagcsere egészséges	Glükóz intoleráns (IFG+IGT+2DM)
N	20	51
Életkor (év)	44 ± 13	51±7*
Testtömeg (kg)	72.5 ± 14.3	80.0 ± 14.8
BMI (kg/m²)	27 ± 4	31.6 ± 6*
Haskőrfogat (cm)	96 ± 13	106 ± 13**
HbA1c (%)	5.94 ± 0.9	6.25 ± 0.7
Glucose (mmol/l) AUC_{ivGTT}	566 ± 103	718 ± 102***
Inzulin (mE/l) AUC_{ivGTT}	1883 ± 1187	2037 ± 1281
HOMA-IR	2.98 ± 1.74	4.24 ± 2.71*
M-1 (mg/kg/min)	11.8 ± 5.2	7.57 ± 3.4***
M-2 (mg/kg/min)	9.27 ± 5.37	7.51 ± 4.68
BMD L₁₋₄ (g/cm²)	1.084 ± 0.13	1.106 ± 0.15
BMD (femur nyak) (g/cm²)	0.963 ± 0.13	0.960 ± 0.11
Teljes test BMD (g/cm²)	1.121 ± 0.09	1.155 ± 0.09
β-crosslaps (ng/ml)	0.39 ± 0.2	0.36 ± 0.1
sRANKL (pmol/l)	0.30 ± 0.2	0.29 ± 0.3
P1NP (ng/ml)	32 ± 29	43 ± 17
P1NP/β-crosslaps	68 ± 48	115 ± 33*
Katepszin K (pmol/l)	9.02 ± 6.9	11.4 ± 9.3
Katepszin K/P1NP	0.36 ± 0.5	0.32 ± 0.2

átlag ± SD, szignifikancia szintek: egészséges versus glükóz intoleráns * p= <0.05,

** p= <0.01, *** p= <0.001

Az egészségesek csontdenzitása szignifikáns negatív kapcsolatban volt az M-1-el (lumbális csigolyák r = -0.4921, p <0.05, femur: r = -0.4972, p <0.05), ám a romló

glükóztoleranciával ez a kapcsolat megszűnt (gerinc: $r = -0.022$, ns; femur: $r = -0.3136$, ns) (10. táblázat). Az adipokinek (leptin, adiponektin) közül csak az adiponektin korrelált a denzitással, amíg ez a kapcsolat a cukoranyagcsere romlásával megmaradt a csigolyáknál ($r = -0.5081$, $p < 0.05$; $r = -0.2804$, $p < 0.05$), eltűnt a femuron ($r = -0.6742$, $p < 0.01$; -0.1723 , ns) (4. táblázat).

4. TÁBLÁZAT: CSONTDENZITÁS ADATOK ÉS ANYAGCSERE-PARAMÉTEREK, VALAMINT A CSONTÁTÉPÜLÉST JELZŐ MARKEREK KÖZÖTTI KORRELÁCIÓS KAPCSOLATOK.

	BMD L1-4 (g/cm²)	BMD L1-4 (g/cm²)	BMD femur nyak (g/cm²)	BMD femur nyak (g/cm²)
	Anyagcsere egészséges r =	Glükóz intoleráns (IFG+IGT+2DM) r =	Anyagcsere egészséges r =	Glükóz intoleráns (IFG+IGT+2DM) r =
N	20	51	20	51
M-1 (mg/kg/min)	-0.4921 *	-0.022	-0.4972 *	-0.3136
Inzulin (mE/l) AUC_{ivGTT}	+0.1885	-0.1188	+0.2188	+0.1912
Glucose (mmol/l) AUC_{ivGTT}	+0.1053	+0.2127	+0.3599	+0.3325 *
Adiponektin (ug/ml)	- 0.5081 *	- 0.2804*	- 0.6742 **	- 0.1723
Leptin (ng/ml)	+ 0.0610	- 0.0613	+ 0.1473	+0.0507
Osteocalcin (ng/ml)	-0.3816	- 0.2193	-0.4010	-0.4218 **
β-crosslaps (ng/ml)	-0.5364 **	-0.3496 *	-0.3731	-0.2995 *
PINP (ng/ml)	-0.4590 *	-0.3413*	-0.2194	-0.2034
PINP/ βcrosslaps	-0.6380 **	+0.1458	-0.5699 **	-0.1889

M1 = egésztest glükózfelhasználás (mg/kg/min). AUC= az iv. cukorterhelés (ivGTT) során a görbe alatti terület. (r értékek és szignifikancia szintek: * $p < 0.5$, ** $p = < 0.01$).

Vizsgálatunkban a formációs és reszorpciós markerből képzett hányados (P1NP/ β -Crosslaps) szignifikáns növekedése (3. táblázat) a glükózanyagcsere romlásával csökkenő csontreszorpciót jelez, mely tartós fennállás esetén elvezethet a 2DM-ben észlelt és az irodalomban közölt hiperdenzitáshoz (Tuominen és mtsai 1999). Ezt erősíti, hogy a glükózintoleranciával együtt pozitív kapcsolat fedezhető fel a glükóz AUC-értékek és a femur nyak denzitása között (4. táblázat).

5.2.2. A csont - és glükózanyagcsere közötti kapcsolat férfiakban

Az előzőekben említett állatkísérletes összefüggés (Lee és mtsai 2007) ellenőrzése - vizsgálataink idején - emberen még nem történt meg. Világviszonylatban elsőként - az egészségesből a 2DM-ig átívelő beteganyagban - vizsgáltuk a HEGC módszerrel mért inzulinérzékenység és a csontállapot, illetve az oszteokalcin és más csontanyagcsere markerek kapcsolatát.

A vizsgálatokat a feltételezett gender különbségek miatt csak férfiakon kezdtük. (Nők vizsgálatával munkacsoportunk később foglalkozott, ez nem képezi beszámolóim tárgyát, csak a későbbiekben az eredményekre hivatkozom).

Erős pozitív korrelációt találtunk férfiak esetében az OCN és a tesztoszteronszint között ($r=0.37$, $p = 0.003$), amely függetlennek bizonyult az életkortól, a testtömegindextől (BMI) és a testzsírtartalomtól (BFP). Nem volt kapcsolat az OCN és az FSH, ösztadiol, vagy dehidroepiandroszteron szintek között. Az OCN és az OGTT AUC glükóz ($r = -0.4$, $p=0.001$), IvGTT AUC glükóz ($r = -0.38$, $p = 0.003$), éhomi FFA ($r = -0.37$, $p = 0.004$), valamint HDL-koleszterin ($r = 0.39$, $p = 0.002$) közötti szignifikáns korrelációkat nem befolyásolta az, ha az adatokat a tesztoszteron értékkel korrigáltuk, viszont eltűnt a korreláció az OCN és a vázizom glükózfelvétele között (5. táblázat).

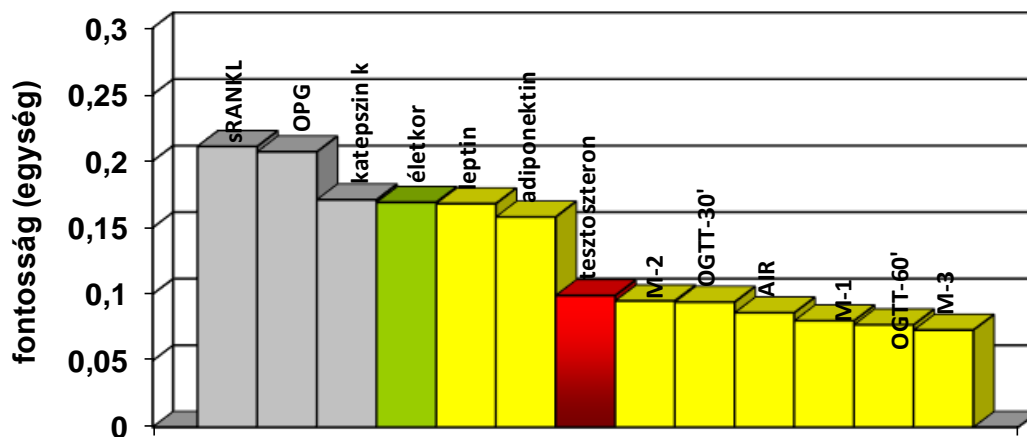
5. TÁBLÁZAT: AZ OCN SZINTEK ÉS ANYAGCSERE-PARAMÉTEREK KÖZÖTTI KAPCSOLATOK

OCN kapcsolatai	Összes ffi	BMI-vel korrigált	Életkorral korrigált	Testzsír %-al korrigált	Testoszteronnal korrigált
BMI(kg/m²)	-0.42**	-	-0.41**	-0.29*	-0.33**
Testzsír (%)	-0.31*	ns	-0.3*	-	ns
OGTT-gluAUC (mmol/l)	-0.4**	-0.33*	-0.32*	-0.38**	-0.3*
IVGTT-gluAUC (mmol/l)	-0.38**	ns	-0.33*	-0.31*	-0.25*
M-1 (mg/kg/min)	0.36**	ns	0.31*	0.26*	0.26*
M-2 (mg/kg/min)	0.35*	ns	0.3*	ns	ns
FFA (mmol/l)	-0.37**	-0.39**	-0.29*	-0.37**	-0.3*
Testoszteron (ng/ml)	0.37 **	0.26*	0.35**	0.28*	-
HDL-koleszterin (mmol/l)	0.39**	0.25*	0.32*	0.35**	0.33**
FSH (U/l)	ns	ns	ns	ns	ns
E2 (pg/ml)	ns	ns	ns	ns	ns
DHEAS (umol/l)	ns	ns	ns	ns	ns
sRANKL (pmol/l)	ns	ns	ns	ns	ns

Rövidítések: ns: nem szignifikáns, p<0.05*, p<0.01**, OGTT-gluAUC: orális glükózterheléses teszten mért glükóz görbe alatti területe, IvGTT-gluAUC: intravénás glükóztolerancia teszten mért glükóz görbe alatti területe, E2: ösztradiol, DHEAS: dehidroepiandroszteron, sRANKL: szolubilis nukleáris faktor kappa-B receptor aktivátor ligand , FSH: follikuláris stimuláló hormon.

A „feature selection” analízis szerint a szérum **testoszteron**, az OCN-szintet befolyásoló 67 változóból álló paraméterek rangsorában a **24-ik**, azaz befolyása erősebb, mint a sorban hátrább álló BFP (testzsírszázalék), BMI, M-3, HbA_{1c}%, OGTT

alatt mért vércukor értékeké (6. ábra). A rangsorban a tesztoszteronnál erősebb hatásúnak bizonyult a zsírszöveti leptin, az adiponektin, illetve a csontszöveti OPG és sRANKL, jelezvén az általunk feltételezett csont-zsírsejt-glükózanyagcsere tengely létezését.



6. ábra: Az OCN- t befolyásoló anyagcsere-paraméterek sorrendje

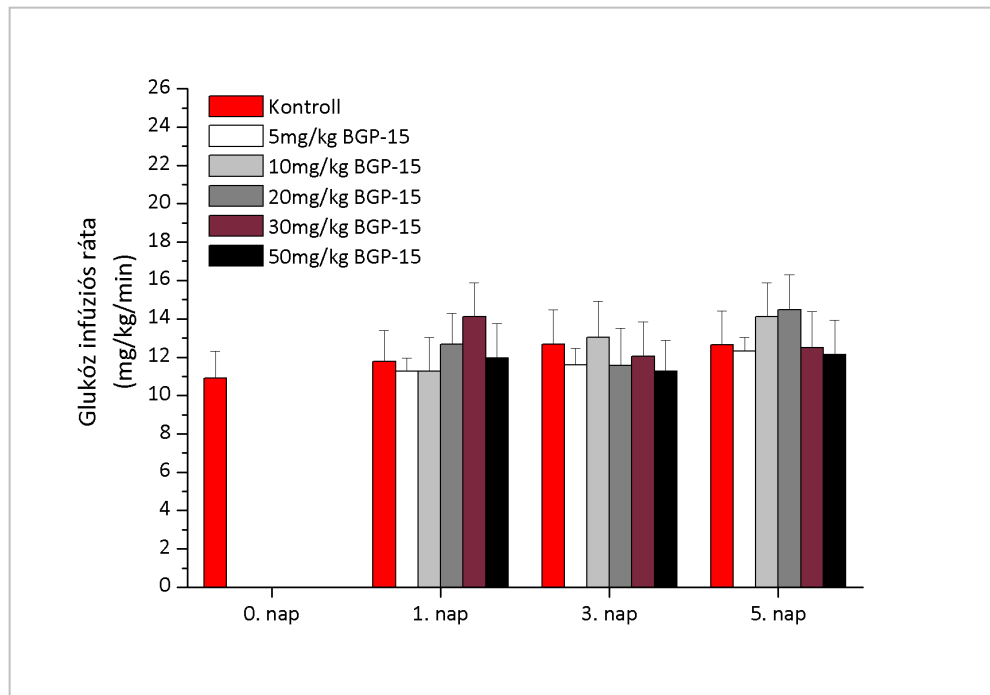
sRANKL: 5.; OPG: 6; katepszin k: 10.; életkor:10.; leptin:12.; adiponektin:14; **tesztoszteron: 24.**; M-2: 27.; OGTT30': 28. AIR: 32.; M-1: 37.; OGTT60': 40.; M-3: 43.

Ez volt az első humán vizsgálat, mely megerősítette az állatkísérletekben észlelt OCN és tesztoszteron kapcsolatot. Adataink alátámasztják, hogy a tesztoszteron tagja az OCN- glükózanyagcsere tengelynek. A tesztoszteron szerepe férfiakban azért érdekes, mert gender specificitásra utal, nőkben ugyanis az OCN-glükózanyagcsere kapcsolat adiponektinen keresztül valósul meg (Buday és mtsai 2013).

5.3. INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÚ GYÓGYSZERJELÖLT MOLEKULA KERESÉSE: BGP-15 PREKLINIKAI VIZSGÁLATAI

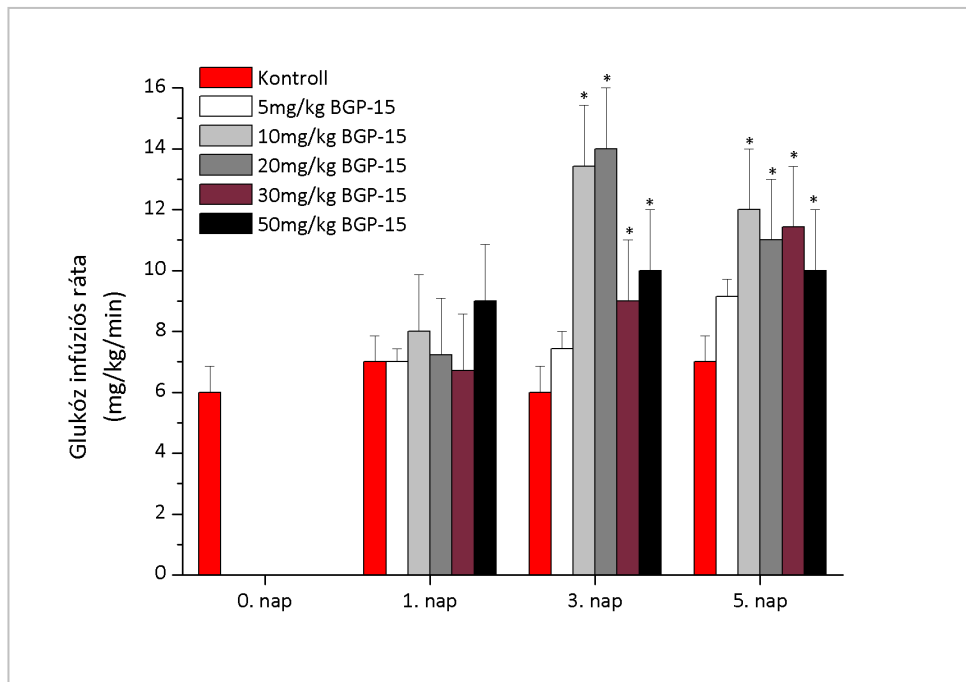
5.3.1. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata normál és hiperkoleszterinemiás nyúlón

Ebben a kísérletsorozatban kíváncsiak voltunk, hogy a BGP-15 inzulinérzékenyítő hatása egészséges vagy csak károsodott metabolizmusú állatban nyilvánul-e meg.



7. ábra: A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatása egészséges nyúlra. Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség átlagát \pm s.d. mutatják. * Statisztikailag szignifikáns különbség a kontroll csoporthoz viszonyítva. (ANOVA, Bonferroni ismételt t-próba).

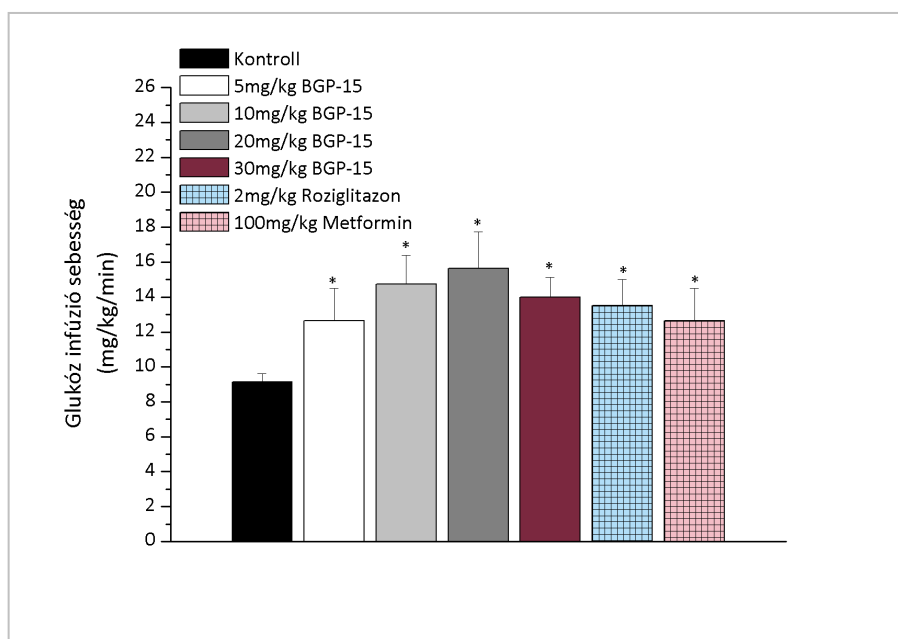
Egészséges anyagcseréjű (normál) nyúlra a BGP-15 nem fokozta tovább az inzulinérzékenységet (7. ábra), míg hiperkoleszterinémias nyúlra a 3. és 5. kezelési napon a legalacsonyabb dózist (5mg/kg) kivéve mindegyik alkalmazott BGP-15 dózis jelentős inzulinérzékenység javulást okozott, mely inzulinérzékenyítő hatás a 10 mg/kg és a 20 mg/kg BGP-15-el kezelt csoportokban volt a legmarkánsabb (8. ábra).



8. ábra: A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatása hiperkoleszterinémiás nyúlón. Az oszlopok a glukóz infúzió sebesség átlagát \pm s.d. mutatják. * Statisztikailag szignifikáns különbség a kontroll csoporthoz viszonyítva, $p < 0.05$. (ANOVA, Bonferroni ismételt t-próba).

5.3.2. A BGP-15 hatása inzulinrezisztens patkánymodellen

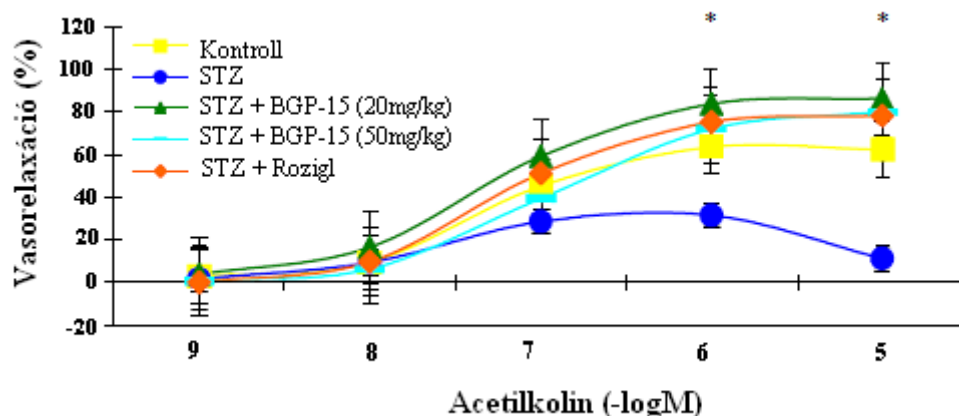
A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását a diabétesz terápiájában alkalmazott roziglitazonnal és metforminnal hasonlítottuk össze genetikusan inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkányokon. Eredményeink szerint a BGP-15 dóziszfüggő módon a roziglitazonnal azonos, a metforminnál viszont hatékonyabb mértékben javította az inzulinérzékenységet (9. ábra).



9. ábra: A BGP-15 hatása Goto-Kakizaki patkányokon: a BGP-15 fokozza az inzulinérzékenységet Goto-Kakizaki patkányokon. Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség átlagát ± s.d. mutatják. * Statisztikailag szignifikáns különbség a kontroll csoporthoz viszonyítva $p < 0.05$. (ANOVA, Bonferroni ismételt t-próba).

5.3.3. A BGP-15 hatása az endotél károsodásra

Az előző kísérletekben láttuk, hogy a BGP-15 hatékonyan javítja az inzulinrezisztenciát a betegség két különböző állatmodelljén, ezt követően kíváncsiak voltunk, hogy a BGP-15 képes-e javítani a diabétesz legrettegettebb szövődményén, az angiopátián. A streptozotocinnal diabéteszessé tett patkányból kivett aorta preparátumon a BGP-15 javította az endotél funkciót, kivédte a vazorelaxáció károsodását mind a 20 mg/kg, mind az 50 mg/kg dózisban (10. ábra). A hatás teljesen megegyezett a roziglitazon hatásával.



10. ábra: A BGP-15 kivédi a streptozotocinnal kiváltott vazorelaxáció károsodást. Az acetilkolinnal előidézett vazorelaxáció mértékét százalékban fejeztük ki. A vazorelaxáció 100%-nak megadásához a fenilefrin EC50-nél (az aorta fal maximális összehúzódsának 50%-hoz szükséges fenilefrin koncentrációja) adott maximális kontrakcióját használtuk. A jelek a vazorelaxációs értékek átlagait \pm SEM mutatják. * Statisztikailag szignifikáns különbség a streptozotocin csoporthoz viszonyítva, $p < 0.05$. (ANOVA, post-hoc többszörös összehasonlítással).

5.4. BGP-15 KLINIKAI VIZSGÁLATAI

5.4.1. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata inzulinrezisztens egyéneken

A randomizált kettősvak, több dózisú, placebo kontrollált fázis II/a vizsgálat során vizsgáltuk a BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását inzulinrezisztens egyéneken. A tanulmányba 47 beteget választottunk be, 42 fejezte be a vizsgálatot (6. táblázat). Kettő technikai ok (nem megfelelő véna) miatt, egy hipertenzió miatt, egy visszavonta részvételi szándékát, egy pedig protokollsértés miatt került kizárára.

6. TÁBLÁZAT: AZ ÖNKÉNTESÉK KLINIKAI JELLEMZŐI

	Kezelési csoportok			
	Összes	Placebo	200mg BGP-15	400mg BGP-15
N	42	11	15	16
Férfi/Nő	17/25	4/7	8/7	5/11
Életkor (év)	53.1±4.5	53.6±5.8	53.2±4.2	52.8±3.9
BMI (kg/m²)	33.7±4.4	33.1±4.3	33.0±4.6	34.7±4.3
Derék/csípő	0.9±0.07	0.9±0.07	0.9±0.07	0.9±0.07
Szisztolés vérnyomás (Hgmm)	138.1±15.6	138.3±16.03	143.4±13.07	132.8±16.8
Diasztolés vérnyomás (Hgmm)	83.9±7.4	81.4±6.02	85.6±5.3	83.9±9.5
Éhomi plazma glükóz (mmol/l)*	5.7±0.9	5.5±1.0	5.8±0.7	5.6±1.04

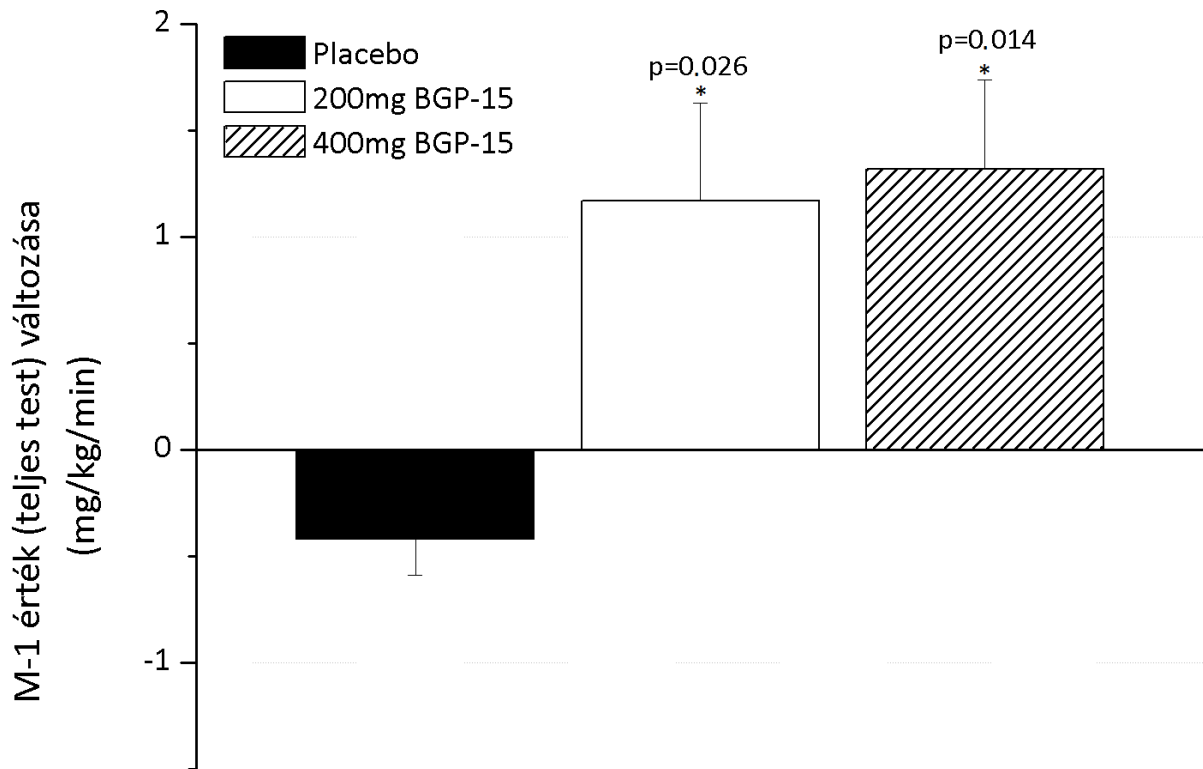
Átlag értékek ± SD; * = Éhomi plazma glükóz az IvGTT megkezdése előtt.

Elsődleges végpontok eredményei

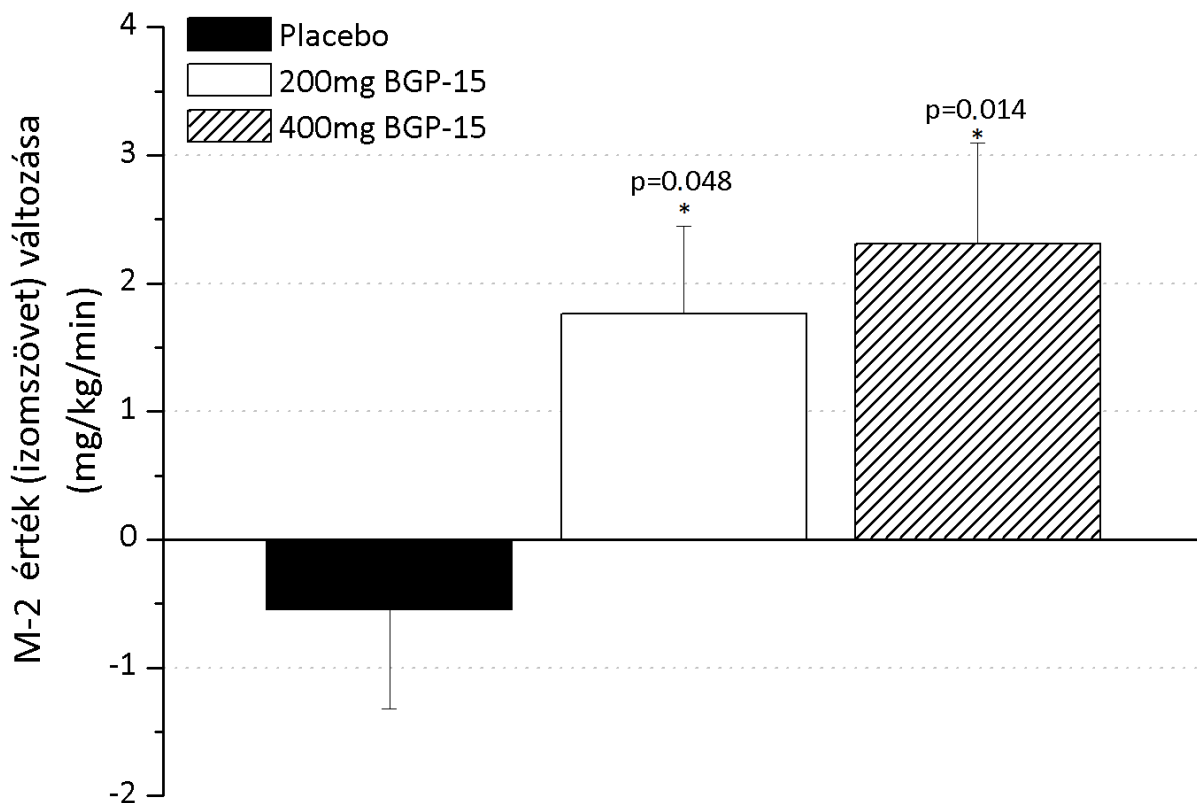
Statisztikailag szignifikáns különbséget mértünk mindkét BGP csoportban a 28 napos kezelési idő végén a kiindulás ponthoz (nulladik nap) képest:

- a teljes test glükózfelhasználásában, M-1 p=0.032, (11. ábra)
- az izomszövet glükózfelhasználásában, M-2 p=0.040 (12. ábra)

Mind a teljes test (11. ábra), mind az izomszövetre számolt glükózfelhasználás (12. ábra) szignifikánsan növekedett a placebo csoporthoz képest.



11. ábra: M-1: A teljes test glükózfelhasználás változása (mg/kg/min) a 28 napos BGP-15 kezelés után a kiindulási ponthoz (nulladik napon: 6.8 ± 0.4) viszonyítva, $p=0.032$ (ANOVA). * A placebohoz képest mindkét aktív csoportban szignifikánsan növekedett a teljes test glükózfelhasználása: 200mg vs pla, $p=0.026$ és 400mg vs pla, $p=0.014$ (ANOVA). Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség változásának átlagát \pm SEM mutatják.



12. ábra: M-2: Az izomszövetre számolt glükózfelhasználás változása (mg/kg/min) a 28 napos BGP-15 kezelés után a kiindulási ponthoz (nulladik napon: 12.1 ± 0.6) viszonyítva, $p=0.032$ (ANOVA), $p=0.040$. * A placebohoz képest mindkét aktív csoportban szignifikánsan növekedett az izomszövet glükózfelhasználása: 200mg vs pla, $p=0.048$ és 400mg vs pla, $p=0.014$ (ANOVA). Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség változásának átlagát \pm SEM mutatják.

Másodlagos végpontok eredményei

A HOMA-IR nem mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget a csoportok között ($p=0.605$). A 400 és 200 mg-os csoportokban a kiindulási ponthoz képest dóziszfüggő csökkenés, míg a placebo csoportban kismértékű növekedés volt megfigyelhető. (7. táblázat).

7. TÁBLÁZAT: HOMA-IR ÉRTÉKEK

	Kezelések		
	Placebo	200mg BGP-15	400mg BGP-15
N	11	15	16
0. nap	3.5 ± 1.7	4 ± 2.8	3.9 ± 2.8
28. nap	3.7 ± 2.5	3.5 ± 2.1	3.3 ± 1.3

Átlag értékek ± SD

A HOMA-BCF értékek változása sem különbözött a csoportok között. A 400 mg-os csoport átlagértékei csökkenést mutattak a kiindulási értékhez képest, a 200mg-os csoport gyakorlatilag nem változott, míg a placebo csoportban egy csekély mértékű növekedés volt megfigyelhető. Azonban egyik változás sem volt statisztikailag szignifikáns (8. táblázat).

8. TÁBLÁZAT: HOMA-BCF ÉRTÉKEK

	Kezelési csoportok		
	Placebo	200mg BGP-15	400mg BGP-15
N	11	15	16
0. nap	53.2 ± 34.7	47 ± 30.5	47.5 ± 23
28. nap	56.5 ± 35.1	46.2 ± 31.8	42.7 ± 14.1

Átlag értékek ± SD

Nem alakult ki statisztikailag szignifikáns változás az IvGTT (AUC) során mért inzulinszintekben. A 400 és 200 mg-os csoportokban a kiindulási ponthoz képest az inzulinrezisztencia javulását jelző dóziszfüggő csökkenés, míg a placebo csoportban csekély mértékű növekedés volt megfigyelhető (9. táblázat).

9. TÁBLÁZAT: AZ IVGTT SORÁN MÉRT AUC INZULIN ÉRTÉKEK VÁLTOZÁSA

Kezelési csoportok	Inzulinszint változás (átlag)	s.d.	p
Placebo	91	91	
200mg BGP-15	53	587.3	0.904
400mg BGP-15	-244	359.2	0.269

*Placebo csoporthoz viszonyítva. Átlag értékek \pm SD

Nem volt statisztikailag szignifikáns változás az éhomi, vagy az IvGTT (AUC_{0-1h}) során mért plazma FFA-, glicerol-, és inzulin szintekben sem.

Nem kívánatos események

A vizsgálat során 16 önkéntes esetében 19 nemkívánatos eseményt észleltünk, melyek közül 15 enyhének, 4 pedig közepesnek bizonyult. A következő nemkívánatos események fordultak elő: fejfájás, testsúlynövekedés, hányinger, hasmenés, krónikus sinusitis, édes érzés, remegés, hipertónia, álmoság, gyengeség, éhségérzet, kötőhártyagyulladás, megfázás, száraz köhögés, szérum kreatinin- és káliumszint emelkedés. Az események vizsgálati készítményhez való kapcsolódását 6 esetben lehetségesnek, 5 esetben valószínűtlennek ítéltük meg, 8 esetben pedig nem találtunk összefüggést. Az adverz események miatt egyik páciens esetében sem alakult ki komoly következmény. Négy eset külön gyógyszeres kezelést igényelt: az egyik résztvevő krónikus sinusitis, a másik fejfájás, két másikat pedig hipertónia miatt kellett kezelni. A 19 rögzített nemkívánatos esemény közül 6-ot találtunk a placebo csoportban (31.58%), 10-et a 200mg-os csoportban (52.63%), 3-at pedig a 400 mg-os csoportban (15.79%). Súlyos nemkívánatos eseményt nem észleltünk a vizsgálat során.

Az első (szűrés) és az utolsó (elbocsájtó) vizit alkalmával végzett vérkép, kémia és vizeletüledék vizsgálatok (vvt süllyedés, vérkép, máj- és vesefunkció) nem mutattak

klínikailag szignifikáns eltérést. Az EKG paraméterek elemzésekor [PQ (msec), QRS (msec), QTc (msec)] szignifikáns eltéréseket nem találtunk.

5.4.2. A BGP-15 hatása az olanzapin által okozott inzulinrezisztenciára

Mindkét kezelési csoportba 21 önkéntes került beválasztásra, akik közül 5 főt protokoll deviáció miatt ki kellett zárni, így 37-en fejezték be a vizsgálatot (10. táblázat). Ennek megfelelően a végpont paraméterek feldolgozása a 37 fő adataiból történt.

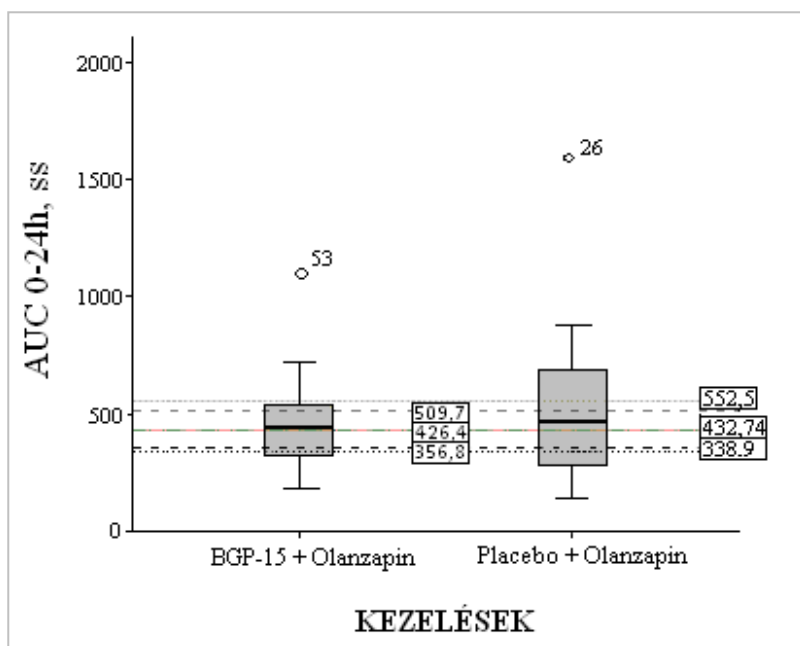
10. TÁBLÁZAT: AZ ÖNKÉNTESOK KLÍNIKAI JELLEMZŐI

	Placebo	BGP-15 400 mg od
N	19	18
Férfi/Nő	14/5	16/2
Életkor	37 ± 11	33 ± 10
Testtömegindex (kg/m²)	25.8 ± 1.44	25 ± 1.48
Testsúly (kg)	77.7 ± 8.0	76.1 ± 9.1
Szisztolés vérnyomás (mmHg)	123 ± 10	128 ± 11
Diasztolés vérnyomás (mmHg)	76 ± 8	77 ± 7
Éhomi plazma glükóz (mmol/l)	5.14 ± 0.37	5.09 ± 0.52

Átlag értékek ± SD; * = Éhomi plazma glükóz az IvGTT megkezdése előtt.

Elsődleges végpontok eredményei

Az elsődleges végpont paramétereit mindazoknál határoztuk meg (n=37), akik a 15. napon kezdődő farmakokinetikai mintavétel sorozatot teljesítették (13. ábra).



13. ábra BGP + Olanzapin és a Placebo + Olanzapin csoport AUC oszlopai. A piros vonal: BGP+Olanzapin csoport AUC geometriai átlaga; szaggatott vonal: AUC geometriai átlagának 90% -os konfidencia intervalluma a BGP+Olanzapin csoportban; zöld pontozott vonal: AUC geometriai átlaga a Placebo+Olanzapin csoportban; pontosított vonal: AUC geometriai átlagának 90% -os konfidencia intervalluma a Placebo+Olanzapin csoportban; kör: kiesők.

A geometriai átlagok hasonlóan mutatkoztak mind a BGP-15 + olanzapin, mind a placebo + olanzapin csoportban, de a magas szórás miatt a geometriai átlagok 90%-os konfidencia intervalluma [0.732; 1.327] nem fért bele az előre meghatározott intervallumba [0.8; 1.25].

Ezért az olanzapin és a BGP-15 közötti farmakokinetikai interakciót nem lehetett teljesen kizárni, az eredmények alapján a két szer között minimális interakció állhat fenn.

Másodlagos végpontok eredményei

Testsúlyváltozás

Mind az aktív, mind a placebo csoportban szignifikánsan emelkedett a testsúly a 18. napon a kiindulási értékhez képest (11. táblázat). A csoportok között nem volt szignifikáns különbség.

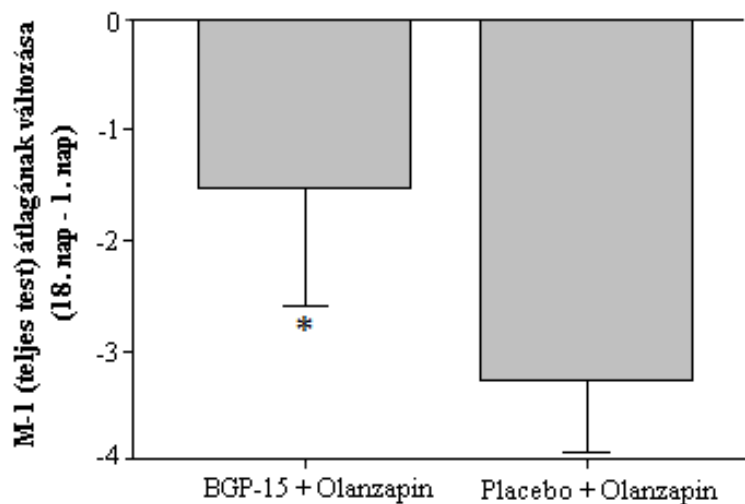
11. TÁBLÁZAT: A TESTSÚLYVÁLTOZÁS MÉRTÉKE (KG) A KIINDULÁSI PONTHOZ KÉPEST

Kezelési csoportok	Átlagos változás	Standard Error	95% CI	95% CI	p
Placebo+Olanzapin 18. napon	2.2	0.41	1.4	3.0	<0.05
BGP+Olanzapin 18. napon	2.2	0.43	1.3	3.1	<0.05
Különbség* (BGP-Plac) 18. napon	0	0.60	-1.2	1.2	0.987

*A két csoport eredményeinek a különbsége. Ismételt mérések ANCOVA módszerrel számolva, ahol a kezelés testsúlyra gyakorolt hatása és a kiindulási testsúly, mint kovariáns szerepel.

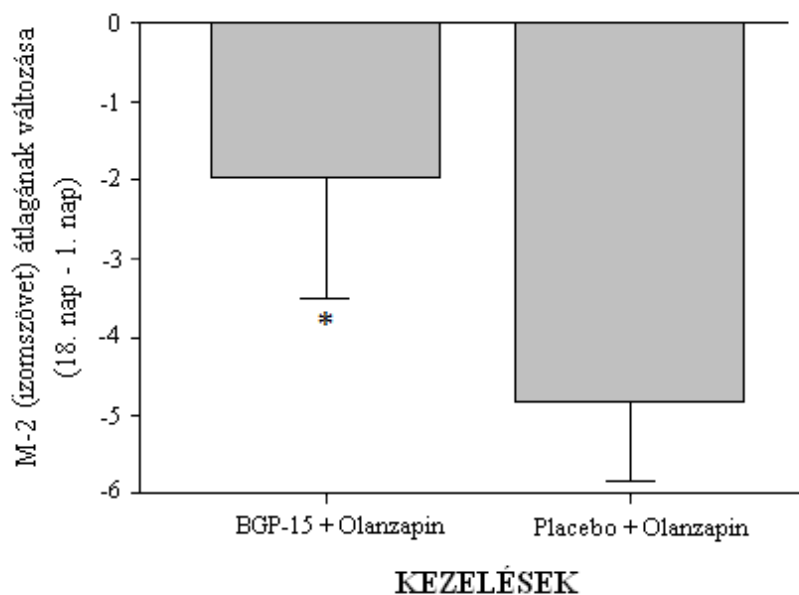
Inzulinrezisztencia változása

Az M-1 és M-2 érték változásait a 14. és 15. ábra mutatja be. Mindkét csoportban szignifikáns mértékben csökkentek az M-1 értékek átlagai (5%-os szinten) a kezelés végén (D18). A két vizsgálati csoport között azonban statisztikailag szignifikáns különbség ($p=0.006$) igazolódott, ugyanis a teljes test glükózfelhasználásának csökkenése kisebb mértékű volt a BGP + Olanzapin csoportban, mint a Placebo + Olanzapin csoportban (14. ábra).



14. ábra: Teljes test glükózfelhasználás változása (mg/kg/min). A kiindulási ponthoz képest mindkét kezelési csoportban szignifikánsan csökkent a teljes test glükózfelhasználása ($p < 0.05$, t-próba) * A BGP-15-el kezelt csoportban szignifikánsan kisebb mértékben csökkent a teljes test glükózfelhasználása: 400mg vs pla, $p = 0.006$, (t-próba). Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség változásának átlagát \pm SD mutatják.

Mindkét csoportban szignifikáns mértékben csökkentek az M-2 értékek átlagai (5%-os szinten) a kezelés végén (D18). A két vizsgálati csoport között azonban statisztikailag szignifikáns különbség ($p = 0.002$) igazolódott, az izomszövetre számolt glükózfelhasználás csökkenése kisebb mértékű volt a BGP + Olanzapin csoportban, mint a Placebo + Olanzapin csoportban ($p = 0.002$) (15. ábra).



15. ábra: Az izomszövetre számolt glükózfelhasználás változása (mg/kg/min). A kiindulási ponthoz képest mindkét kezelési csoportban szignifikánsan csökkent a teljes test glükózfelhasználása ($p < 0.05$, t-próba) * A BGP-15-el kezelt csoportban szignifikánsan kisebb mértékben csökkent az izomszövet glükózfelhasználása: 400mg vs pla, $p = 0.002$, (t-próba). Az oszlopok a glükóz infúzió sebesség változásának átlagát \pm SD mutatják.

HOMA-IR érték változása

A vizsgálati populációban növekedett a HOMA-IR értékek átlaga mind a kezelt, mind a placebo csoportban, azonban a két vizsgálati csoport HOMA-IR változásában nem volt szignifikáns különbség.

HOMA-BCF változása

Nem találtunk szignifikáns változást a HOMA-BCF értékekben az egyes csoportok kezelése során, illetve nem volt különbség a két kezelési csoport között sem.

Nem kívánatos események

A 17 napos kezelési időszak alatt az egészséges önkéntesek életvitele jelentősen megváltozott: a napi aktivitásuk/tevékenységük csökkent, nőtt az alvással töltött órák

száma, fokozódott az étvágyuk. 22 önkéntes esetében 25 nemkívánatos esemény fordult elő, ebből 3 önkéntesnél 2 adverz esemény (AE) is volt (004, 020, 053). A következő AE-ek fordultak elő: szupraventrikuláris tachikardia, hasmenés, álmoság, fejfájás, fáradtságérzés, megnövekedett étvágy, májenzim emelkedés, ödéma és gyulladás a jobb könyökhajlatban. Az események súlyossága 15 esetben enyhének, 10 esetben közepesnek bizonyult. 12 önkéntes (55.6%) nemkívánatos eseménye a placebo csoportban, és 10 (45.5%) a BGP-15 csoportban volt. Adverse események megoszlása: 14 (56%) a placebo csoportban, és 11 (44%) a BGP-15 csoportban.

A nemkívánatos esemény és a vizsgálati készítmény szedése között a kapcsolat 8 (32%) esetben „valószínű”, 1 (4%) esetben „lehetséges”-nek, 5 (20%) esetben „nem valószínű”-nek és 11 (44%) esetben nem volt összefüggés. Minden önkéntesnél az események szövődménymentesen rendeződtek. Egy esetben (038) kellett fejfájás miatt gyógyszeres kezelést alkalmazni (Mexalen).

A fizikális státuszban, az EKG leletben és a laboratóriumi eredményekben klinikailag szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk. Az észlelt 25 nemkívánatos esemény egyike sem veszélyeztette az önkéntesek biztonságát.

5.4.3. A BGP-15 hatása a csontképzésre

Az inzulinérzékenység és a csontállapot közötti - az előzőekben tárgyalt - kapcsolat létét megkérdőjelezték az inzulinérzékenyítő roziglitazon csonttörést okozó hatásáról szóló megfigyelések (Murphy és Rodgers 2007).

Ahhoz, hogy el lehessen dönteni, vajon az inzulinérzékenység változása, vagy a roziglitazon közvetlen csonthatása a felelős az említett mellékhatásért, egy nem glitazon típusú inzulinérzékenyítő gyógyszerjelölt csontrendszeri hatását kellett vizsgálnunk.

A hősokkfehérje-aktivátor BGP-15 hatását vizsgáltuk a BMU aktivitására. A 28 napos vizsgálatban 42 csökkent cukortoleranciájú, inzulinrezisztens (HOMA érték: 4.35 ± 2.16) önkéntes kapott 400mg BGP-15-t (n=16), vagy placebot (n=11). Mértük a teljes test glükózfelvételét (M-érték), a testösszetételt, a lumbális csigolyák és a combcsont

sűrűségét, a szérum oszteokalcin, β -crosslaps, total P1NP, katepszin K, oszteoprotegerin (OPG), sRANKL szinteket.

A 28 napos BGP-15 kezelés alatt a csontbontást jelző katepszin K (4.51 ± 1.4 vs 3.17 ± 1.1 ng/ml, $p=0.0012$) és a β -crosslaps (0.41 ± 0.18 vs 0.36 ± 0.1 ng/ml, $p=0.031$) szintek csökkentek, a csontépítés markerekének számon tartott P1NP érték pedig növekedett (37 ± 18 vs 40.9 ± 15 ng/ml, $p=0.040$) a 400 mg BGP-15-el kezelt csoportban (12. táblázat). Az általunk szerkesztett BMU aktivitást jelző index értéke emelkedett (270 ± 195 vs 484 ± 392 , $p=0.004$) (12. táblázat). Az oszteokalcin és az M-értékek közötti összefüggés szignifikánsnak bizonyult ($r = 0.5939$, $p < 0.001$).

Adataink alapján úgy gondoljuk, hogy a roziglitazon kezelés során észlelt fokozott törési kockázat nem a javuló inzulinrezisztenciával függ össze, hanem a roziglitazon direkt, kedvezőtlen, részleteiben még nem ismert és nem vizsgált csonthatásával.

12. TÁBLÁZAT. BGP-15 (400 MG) HATÁSA A CSONTFORMÁCIÓS ÉS CSONTREZORPCIÓS MARKEREKRE

	Kezelés előtt	Kezelés után	P-érték
P1NP (ng/ml)	37.6 ± 18.7	40.9 ± 15.6	0.040
Oszteokalcin (ng/ml)	16.5 ± 6.65	18.00 ± 6.6	ns
β -crosslaps (ng/ml)	0.41 ± 0.18	0.36 ± 0.15	ns
Katepszin K (pmol/l)	4.51 ± 1.42	3.17 ± 1.18	0.0012
P1NP/Katepszin K	9.67 ± 6.73	16.6 ± 7.1	0.025
Oszteoprotegerin (pmol/l)	2.80 ± 0.55	2.83 ± 0.63	ns
sRANKL(pmol/l)	0.30 ± 0.09	0.31 ± 0.10	ns
P1NP/β-crosslaps	985 ± 396	122 ± 44	0.040
OPG/sRANKL	10.0 ± 3.35	10.0 ± 3.97	ns
iPTH (pmol/l)	4.18 ± 1.2	3.79 ± 1.7	ns
BMU index	270 ± 195	484 ± 392	0.004

Átlag ± standard deviáció, ns: nem szignifikáns,

BMU-index= (OPGxP1NP) x (β -crosslaps x katepszin-K x sRANKL)⁻¹)

6. MEGBESZÉLÉS

A nagy nemzetközi vizsgálatok tanúsága szerint, a diabétesz világjárvány lassítására (International Diabetes Federation 2013) vagy megállítására esélyünk csak akkor van, ha a cukorbetegséget klinikai manifesztálódása előtt felismerjük és kezeljük. A diabéteszt megelőző prediabétesz állapotra az inzulinérzékeny szövetek inzulinrezisztenciája és az inzulint termelő β -sejtek működési zavara jellemző. Munkánk célja ennek a sikeres beavatkozást ígérő időszaknak a megismerése és gyógyszeres befolyásolása, az IR mérésére alkalmas módszerek tesztelése, összehasonlítása, valamint az IR hatásának vizsgálata a teljes test, az izom-, a zsírszövet glükózfelvételének és az energiaigényes csontépítésnek a kapcsolatára. Az IR javítására hatásmechanizmusában teljesen új gyógyszerjelöltet, a HSP koindukáló BGP-15-t használtuk a preklinikai állatkísérletek és a humán klinikai vizsgálatok során. A pszichiátriában széleskörűen alkalmazott olanzapin által kiváltott inzulinrezisztencia és diabétesz talaján is kívántuk igazolni a BGP-15 jótékony hatásait.

6.1. AZ IR MÉRÉSÉRE ALKALMAS MÓDSZEREK TESZTELÉSE ÉS AZ IR ÁLLAPOTTAL KAPCSOLATOS ÚJ MEGFIGYELÉSEK.

Vizsgálataink alapján, a nemzetközi irodalom véleményével összhangban arra jutottunk, hogy az inzulinérzékenység vizsgálatára a clamp módszer a legpontosabb eljárás. Komoly hátránya azonban, hogy munkaigényes, összeszokott, gyakorlott személyzetet igényel, igen megterhelő a vizsgált személy számára és rendkívül drága, ezért nem alkalmas nagy esetszámú, vagy populációs vizsgálatokra. A világszerte elterjedt, az IR jellemzésére használt indexeket csak nagy esetszámú vizsgálatok esetében használják, gyógyszerhatás mérésére nem alkalmasak, mert nem adnak pontos adatokat, és a gyógyszerfejlesztés korai klinikai fázisában pedig csak kis esetszámú vizsgálatokat engedélyeznek.

6.2. A GLÜKÓZANYAGCSERE - CSONTÁLLAPOT KAPCSOLATOK

Feltételezésünk szerint a szervezet minden szövetére kiterjedő IR során a BMU-ban is megváltoznak az inzulinfüggő folyamatok, megváltozik az inzulin jelátvitel. Az inzulinhatásnak intracelluláris szinten két fő iránya van, az egyik az inzulinreceptor – inzulinreceptor szubsztrát (IRS) – foszfoinozitol-kináz-3 (PI3K) mediált anyagcsere út. A másik a MAPK-dependens sejtproliferáció, a mitogenezis, a génexpressziók útja. Az inzulinrezisztencia a PI3K-dependens „anyagcsere utat” érinti, itt károsítja az inzulin jelátvitelt az FFA, és a TNF- α is. A PI3K-tól függ a GLUT4-transzlokáció a plazmamembránba és a következményes glükóztranszport és felvétel (Taniguchi és mtsai 2006). A MAP-kináz úton a jelátvitel változatlan, ezzel magyarázható, hogy a romló anyagcserehelyzetben fokozódik a sejtproliferáció, és kialakulnak az IR-t és 2DM-t kísérő érszövődmények, vagy a BMU-ban fokozódik a csontképzés. Feltételezhető, hogy a megromlott anyagcsere helyzetben létrejött csontszövet nem teljes értékű, ezért társulhat a 2DM-ben a magasabb denzitású csontokhoz fokozott törési rizikó (Schwartz 2003).

A clamp vizsgálataink szoros kapcsolatot igazoltak a glükózanyagcsere, az inzulinérzékenység és a csontok állapota között az egészséges, változókorban lévő nőkben, mely a glükóztolerancia romlásával és az inzulinrezisztencia kialakulásával megbomlik (Buday és mtsai 2007).

Vizsgálatunk volt az első humán megfigyelés, mely megerősítette az állatkísérletekben észlelt OCN és glükózanyagcsere kapcsolatot (Tory és mtsai 2008). Az oszteoblasztokban termelődő OCN az inzulinérzékenység és a β -sejtek működésének befolyásolásával biztosítja a csontrendszer számára az energiaellátást, amikor a vázizomzat energiaigénye ezt lehetővé teszi. Nemzetközi viszonylatban is elsőként publikált vizsgálati adataink szerint az OCN glükózanyagcserére gyakorolt szabályozó hatása férfiakban a tesztoszteron (Literáti-Nagy és mtsai 2011), nőkben az adiponektin közreműködésével valósul meg (Buday B és mtsai 2012), így a csont-pankreasz tengely működése gender specifikus.

Feltételezhető, hogy az izom- és zsírszöveti inzulinrezisztencia (2DM) miatti csökkent energiafelvétel miatt a csontszövet felé az energiaellátás javul, magasabb denzitású csontok alakulnak ki, de a létrejött csontszövet nem teljes értékű, és ezért társulhat a magasabb denzitású csontokhoz fokozott törési rizikó.

A javuló anyagcsere-állapot, inzulinszintek és inzulinérzékenység, valamint a javuló csontállapot közötti kapcsolat kérdését tovább bonyolította, hogy a glitazonok - elsősorban roziglitazon alkalmazása - bár a posztmenopauzában lévő nőbetegek esetében javították az anyagcsere-állapotát, növelték a törési kockázatot (Adami 2009, Murphy és Rodgers 2007).

Vizsgálatunk alapján valószínű, hogy a roziglitazon kezelés során észlelt fokozott törési kockázat nem a változó inzulinérzékenység következménye, hanem egy részleteiben még nem ismert és nem vizsgált, a roziglitazonnal kapcsolatos BMU hatásról van szó.

A cukorbetegség és a csontállapot közötti kapcsolat bonyolultsága és ellenmodásai keltették fel figyelmünket, hogy ezt a kapcsolatot már a prediabetesz idején vizsgáljuk. Ennek a tevékenységnek volt eredménye az Amerikai és az Európai Diabétesz Társaság kongresszusain több alkalommal bemutatott beszámolóink a romló cukoranyagcsere és csont kapcsolatokról (Buday és mtsai 2012, Buday és mtsai 2011a, Buday és mtsai 2011b, Literáti-Nagy és mtsai 2011, Korányi és mtsai 2009, Tory és mtsai 2008). Nemzetközi vonatkozásban világelsőként ismertettük ugyanott az OCN-inzulinérzékenységről szóló humán megfigyelésünket és az inzulinérzékenység gyógyszeres javításának csontépítő hatását.

Eredményeink nemcsak azt sugallják, hogy az inzulinérzékenység javítása kedvezően hat a csontépítésre, de azt is, hogy az inzulinérzékenyítő glitazonok csonttörést fokozó hatása a vegyületcsoport direkt hatása és nem az IR változásával kapcsolatos. Ez a megfigyelés további biztatást ad egy más hatásmechanizmusú inzulinérzékenyítő molekula, a BGP-15 további fejlesztésére.

6.3. INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÚ GYÓGYSZERJELÖLT MOLEKULA – PREKLINIKAI VIZSGÁLATA

A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálatai során több különböző diabéteszes állatmodellen (ob/ob egér, STZ patkány, Goto-Kakizaki patkány, hyperkoleszterinémias nyúl) bizonyítottuk, hogy a kemoprevenziós hatásánál sokkal kisebb dózisban javítja az inzulinérzékenységet. Ezt a hatását a mindennapos cukorbeteg-ellátás során használt szerekkel (metformin, roziglitazon) is összehasonlítottuk. Dózisfüggő módon, a roziglitazonnal azonos, a metforminnál viszont hatékonyabb mértékben javította az inzulinérzékenységet. A remélt terápiás alkalmazást az is segítheti, hogy diabéteszes érelváltozások kezelése során is szóbajöhet használata, hiszen a streptozotocinnal diabéteszessé tett patkányból kivett aorta preparátumon a szer javította az endotél funkciót, növelte az acetilkolinnal kiváltott vazorelaxáció mértékét, mely szintén összevethető és azonos volt a roziglitazon hatásával.

6.4. A BGP-15 INZULINÉRZÉKENYÍTŐ HATÁSÁNAK IGAZOLÁSA INZULINREZISZTENS EGYÉNEKEN

Egy 28 napos vizsgálatban a BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását bizonyítottuk inzulinrezisztens önkénteseken. A BGP-15-tel kezelt egyénekből a placebo csoporthoz képest szignifikánsan javuló M-értékek változása dózisdependensnek bizonyult, az eredmények a 400 mg-os csoportban voltak jobbak, de a két különböző dózisu hatóanyagot szedő csoport között szignifikáns különbséget nem találtunk.

A másodlagos végpontok (HOMA-IR, HOMA-BCF, IvGTT AUC_{inzulin}) eredményei követik és megerősítik a clamp eredményeket, a javuló inzulinérzékenységet, annak ellenére, hogy a változások statisztikailag nem szignifikánsak. A HOMA-értékek hiányzó szignifikáns változása a kezelés rövid időtartamával, az alacsony betegszámmal és a nagy szórással magyarázható. Az irodalom adatait (Wallace és mtsai 2004) jelen vizsgálatunk is igazolta, miszerint a HOMA indexek rövid, kis esetszámú klinikai vizsálatokban nem alkalmasak az inzulinrezisztencia változásának mérésére.

Vizsgálatunk bizonyította, hogy a BGP-15 mind a 200 mg-os, mind a 400 mg-os dózisa 28 nap alatt szignifikánsan javította az inzulinszenzitivitást jelző, inzulindependens glükózfelvételt. Ez azért is figyelemre méltó, mert míg a BGP-15 a kezelés 28 napja alatt 25-28%-al javította az inzulinérzékenységet, addig a - nemrég még klinikai gyakorlatban gyógyszerként alkalmazott - roziglitazon csak 12-13 hetes kezelés elteltével tudta mindezt elérni (Juhl és mtsai 2003).

A BGP-15 hatásmechanizmusát tekintve chaperone aktivátor vagy koaktivátor (Vigh és mtsai 1997, Kieran és mtsai 2004, McCarty 2006) hidroximsav származék. A BGP-15 ezen molekulasaládon (bimoclozolol, arimoclozolol) belül az első olyan molekula, melynek sikerült inzulinérzékenyítő hatását igazolni. Sejtkultúrán végzett hatástani vizsgálatok szerint a BGP-15 fokozza a HSP90 α és HSP72 expressziót és a konstitutív nitrogén-monoxid szintázok (cNOS) működését (endoteliális NOS, neuronális NOS) (Kolonics és mtsai 2004, Kolonics és mtsai 2006).

A HSP-knek fontos szerepük van az NO-mediált jelátviteli folyamatokban (Nedvetsky 2002), többek között a HSP90 részt vesz mind az endoteliális NOS (Garcia-Gardena és mtsai 1998, Fontana és mtsai 2002), mind a neuronális NOS működésének szabályozásában (Bender és mtsai 1999). A károsodott nitrogén-monoxid szintáz működés, és nitrogén-monoxid (NO) biohasznosulás szintén jelen van a diabétesz patomechanizmusában (Sadri és Lautt 1999, Shankar és mtsai 2000), összekapcsolódik az IR megjelenésével (Kashyap és mtsai 2005).

A chaperonok, a diabétesz és az inzulinérzékenység kapcsolatát jelzi, hogy a 2DM-t csökkent HSP72 expresszió jellemzi (Kurucz és mtsai 2002, Soti és mtsai 2005, Bruce és mtsai 2003), a teljes test glükózfelhasználása (M-érték) pedig szignifikáns pozitív korrelációban van a HSP72 szintekkel. (Kurucz és mtsai 2002).

Inzulinrezisztens, kövér ob/ob egereken igazolták, hogy a HSP72 szint fokozódása véd az IR kialakulásával szemben. A BGP-15 kezelés 15 nap után szignifikánsan csökkentette az éhomi vércukor- és inzulinszintet, és növelte az inzulinérzékenységet (Chung és mtsai 2008). A javuló inzulinérzékenység mellett a HSP72 expresszió 50 %-al nőtt a vázizomban, ezzel egyidejűleg a JNK aktivációt jelentő foszforiláció mértéke 51 %-al csökkent (Chung és mtsai 2008), alátámasztva ezzel az inzulinérzékenység fokozására irányuló hatásmechanizmust.

A mitokondriumszám, a mitokondrium membránpotenciál és a biológiailag aktív NO mennyisége a sejt energiatermelő képességének fontos jellemzője. Diabétiszben csökkent a sejtekben a mitokondriumok mennyisége és azok működése, de ismereteink a prediabetesz idejéről hiányosak, bár vannak adatok arról, hogy az inzulinrezisztencia hátterében a mitokondriumok csökkent oxidatív foszforilációs kapacitása áll (Lowell és Shulman 2005). A HSP-k fokozzák a mitokondriális biogenezist is és javítják a mitokondriális diszfunkciót a károsodott glükózanyagcserében (Kolonics és mtsai 2006).

Az ATP termelése közvetlenül a mitokondriális membránpotenciál energiájának a felhasználásával valósul meg, így a membránpotenciál a mitokondriumfunkció fontos jellemzője. Izomszövet biopsziával végzett vizsgálatok szerint 2DM betegekben kisebb a mitokondrium terminális oxidációjában résztvevő enzimek (Vondra és mtsai 1977), illetve a mitokondriális rotenon-szenzitiv nikotinamid-adenin-dinukleotid-oxidoreduktáz

[NADH:O(2)] aktivitása (Kelley és mtsai 2002). A 28 napos BGP-15 vizsgálatunkban a limfociták mitokondriumszáma és funkciója együtt változott a clamp-el mért teljes test glükózfelhasználással. Az IR csoport M-értékeinek és a hozzá tartozó NO termelés súlyozott átlagai határ szignifikancia szinten ($p=0.058$) korreláltak egymással (Kolonics és mtsai 2006).

A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatása a HSP, NOS aktiválódásának és az általuk mozgatott jelátviteli utak kombinációjából eredhet, de mind a mai napig nincs egyértelmű magyarázat.

6.5. A BGP-15 HATÁSA AZ OLANZAPIN OKOZTA INZULINREZISZTENCIÁRA

A mindennapos pszichiátriai gyakorlatban az olanzapinnak és társvegyületeinek igen fontos szerepe van a súlyosan instabil pszichés státuszok stabilizálásában. Metabolikus mellékhatásaik - elhízás, inzulinrezisztencia, diabétesz - miatt azonban használatuk komoly mérlegelést igényel. A mellékhatások kivédésére kíséreltük meg a BGP-15 kezelést, miután a BGP-15 hatását az olanzapin okozta inzulinrezisztencia javításában különböző állatmodelleken már igazoltuk (Literáti-Nagy Z és mtsai 2012a, Literáti-Nagy Z és mtsai 2012b).

Az olanzapin által kiváltott inzulinrezisztencia egészséges önkénteseken 17 nap alatt kialakult a Placebo + Olanzapin csoportban, hasonlóan az irodalomban található eredményekkel. (Sacher és mtsai 2008). Az antipszichotikum nemcsak molekuláris biológiai folyamatokban okoz változásokat, hanem az életmódban is. Az önkéntesek mindkét csoportja a napi aktivitás csökkenéséről számolt be, többet aludtak, nőtt az étvágyuk, többet ettek, ennek következtében a testsúly növekedett mind a kezelt (BGP-15 + Olanzapin), mind a kontroll (Placebo + Olanzapin) csoportban.

A placeboval kezelt csoportban az olanzapin kezelés következtében 27%-kal csökkent az izomszövet (M-2) inzulinérzékenysége, míg a BGP-15 kezelés megelőzte az IR kialakulását (15. ábra). Bár ez a hatás mind a teljes testtömegre, mind az izomszövetre vonatkoztatott glükózfelhasználás esetében szignifikánsnak bizonyult (14, 15. ábra), külön kiemelő, hogy ez a védőhatás az inzulin egyik legfontosabb célszervében, az izomszövetben volt a legerősebb.

A 17 napos BGP-15 kezelés kivédte az inzulinrezisztenciát, de nem védte ki az olanzapin okozta testsúlynövekedést. Vizsgálatunkban a Placebo+Olanzapin csoportban kapott testsúlynövekedés hasonló volt Sowell és munkacsoportja által észlelthez (Sowell és mtsai 2002). Valószínűleg a kezelés időtartama volt rövid, hiszen a metformin és a betahisztin súlynövekedést csökkentő hatása is csak lassan, 12 hét alatt alakult ki (Praharaj és mtsai. 2011, Barak és mtsai 2008), ezért a preklinikai vizsgálatok során megfigyelt súlyvédő hatás igazolásához egy hosszabb időtartamú humán vizsgálat szükséges.

Vizsgáltuk a BGP-15 kezelés hatását az olanzapin farmakokinetikai tulajdonságaira. A vizsgálat eredményei szerint a BGP-15-nek nincs hatása az olanzapin plazmakoncentrációjának átlagos minimum, illetve maximum értékeire, a görbe alatti terület (AUC) értékei szinte teljesen azonosak voltak. Az egyéni értékek nagyfokú variációjára miatt a BGP-15 és placebo arányának 90%-os konfidencia intervalluma a 0.732, 1.327 tartományba esett, mely kismértékben eltért a korábban meghatározott 0.8, 1.25 -ös „non-interakciós” tartománytól. Bár nincs arra utaló jel, hogy a BGP-15 befolyással lenne az olanzapin metabolizmusára, a BGP és olanzapin arányának 90%-os konfidencia intervalluma körülbelül 30%-os eltérést mutat. Ez a lehetséges hatás valószínűleg sokkal kisebb mértékű, mint az interindividuális szórások (4-szeres) hatásai az olanzapinnal kezelt (placebo) csoportban.

Eredményeink alapján a BGP-15 reménytelenül gyógyszervárományos a pszichiátriai gyógyszer palettáról jelenleg még nem nélkülözhető AAPD gyógyszercsoport (olanzapin, klozapin, riszperidon) súlyos metabolikus mellékhatásainak kivédésére.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

1. A clamp módszer - bár munkaigényes és megterhelő az önkéntes számára - az inzulinérzékenység mérésének legpontosabb módszere, a „gold standard”. Igaz, hogy az inzulinérzékenység - mindennapos gyakorlatban használható - mérésére számos módszer született, de pontos, tudományos igényű technikának ma is a clamp módszert tartjuk, tehát – elsősorban a korai humán gyógyszervizsgálatokban - nem helyettesíthető.
2. A glükóanyagcsere romlásával megszűnik a csontdenzitás és az inzulinérzékenységet jelző szöveti glükózfelhasználás (M-érték) közötti kapcsolat.
3. Az OCN állatmodellekben igazolt szerepe a csont- és energiaháztartás közötti kapcsolatban vizsgálataink alapján humán vonatkozásban is igazolható. Az OCN csont-pankreasz tengelyben - humán esetben - játszott szerepe gender specifikus, mert azt nőkben az adiponektin, férfiakban a tesztoszteron mediálja.
4. Vizsgálatunk bizonyította, hogy a BGP-15 az állatmodellek és a humán vizsgálatok tanulsága szerint egy új hatásmechanizmusú inzulinérzékenyítő molekula. Inzulinrezisztens egyének 28 napos klinikai vizsgálata során mind a 200 mg-os, mind a 400 mg-os dózisa szignifikánsan javította az inzulinszenzitivitást jelző, inzulindependens glükózfelvételt.
5. A pszichiátriai kezelése során világszerte alkalmazott olanzapin kezelés már rövidtávon is inzulinrezisztenciát okoz. A BGP-15 kezelés alkalmasnak tűnik e szövődmény kivédésére, mert az olanzapinnal együtt adott 400 mg BGP-15, a Placebo+Olanzapin csoporttal összehasonlítva, szignifikánsan csökkentette az inzulinrezisztencia kialakulását, bár - feltehetően a rövid kezelési idő miatt - nem védte ki az olanzapin okozta testsúlynövekedést.
6. Az BGP kezelés okozta IR javulás a csontátépülés kedvező változásával járt, az M-érték javulása a csontépítés fokozásával járt. Adataink egyben arra is utalnak, hogy a glitazonokkal összefüggő fokozott törési kockázat a vegyületcsoport

tulajdonsága, és nem az inzulinrezisztencia változásával függ össze - megerősítve az eltérő hatásmechanizmusú inzulinérzékenyítő molekulák fejlesztésének igényét.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban a 2-es típusú diabétesz pandémiáját éljük. A terjedő diabéteszes világméretű megállítására csak a korai prediabéteszes időszakban van esély. Munkánk során ennek az időszaknak a jellemzésével, a patogenezisében rendkívüli jelentőségű inzulinrezisztenciával (IR), annak mérésével, gyógyszeres befolyásolásával foglalkoztunk és követtük hatását a csont- és a glükózanyagcsere kapcsolatokban is. Az értekezés tárgyát egy olyan gyógyszerjelölt molekula, a BGP-15 preklinikai és klinikai vizsgálatait képezik, mely a HSP-indukción keresztül fejt ki inzulinérzékenyítő hatását. Az inzulinérzékenység változását HEGC módszerrel határoztuk meg. Ebben a munkában a vizsgált személyek sora az egészségestől a gyógyszeres kezelést még nem igénylő 2-es típusú cukorbetegéig ívelt át.

A legfontosabb eredmények az alábbiak voltak:

- Szoros kapcsolatot igazoltunk az inzulinérzékenység és a csontok állapota között, mely a glükóztolerancia romlásával és az inzulinrezisztencia kialakulásával megszűnik.
- Férfiak esetében az OCN - glükózanyagcsere kapcsolatot a tesztoszteron mediálja, függetlenül az életkortól, a BMI-től és a testzsír tartalomtól.
- A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását több különböző inzulin rezisztens állatmodellen bizonyítottuk.
- A BGP-15 a roziglitazonnal azonos, a metforminnál viszont hatékonyabb mértékben javította az inzulinérzékenységet Goto-Kakizaki patkányon, valamint javította az endotélfunkciót és kivédte a vazorelaxáció károsodását streptozotocinnal diabéteszessé tett patkányból kivett aorta preparátumon.
- A 17 napos BGP-15 kezelés kivédte az olanzapin okozta inzulinrezisztenciát, de nem védte ki a testsúlynövekedést egészséges önkénteseken.
- A BGP-15 javította az inzulinérzékenységet, csökkentette a csontbontást jelző katepszin K és a β -crosslaps szinteket, növelte a csontformációt jelző P1NP szintet és BMU indexet a vizsgált inzulinrezisztens egyéneken.

Eredményeink alapján a BGP-15 kezelésnek - a kedvező csonthatásán túl - fontos szerepe lehet a 2DM megelőzésében és terápiájában, valamint az olanzapin által okozott inzulinrezisztencia kivédésében.

9. SUMMARY

Type 2 diabetes (2DM) is a pandemic nowadays. The only chance to stop the increasing diabetes epidemic is at the early, prediabetic stage. In our work we dealt with:

- the characterization of this period,
- the pathogenesis of insulin resistance (IR) with its utmost importance,
- measuring IR,
- altering IR with drug
- we followed the effect of IR in relations between bone- and glucose metabolism too.

The topic of this dissertation is the preclinical and clinical studies of a drug candidate molecule, BGP-15, which acts through HSP induction. The change of insulin sensitivity was measured with HEGC method. In this work the range of enrolled subjects extended from healthy ones to those with 2DM. The most important results were the following:

- We confirmed a tight correlation between insulin sensitivity and the metabolic state of bones ceasing with the progression of glucose intolerance and the development of IR.
- We proved that the link between OCN and glucose metabolism is mediated by testosterone, which is independent from age, BMI and body fat content.
- We proved the insulin sensitizing effect of BGP-15 in several different insulin resistant animal models.
- BGP-15 improved insulin sensitivity, endothelial function, ameliorated impairment of vasorelaxation to the same extent as rosiglitazone and better than metformin in Goto-Kakizaki rats and in aortic preparations isolated from streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats, respectively.
- The 17-day BGP-15 treatment ameliorated olanzapine-induced IR, but it did not protect from weight gain in healthy volunteers.
- BGP-15 increased insulin sensitivity, decreased cathepsin k and β -crosslaps levels characterizing bone resorption, increased P1NP level and BMU index characterizing bone formation.

According to our data BGP-15 treatment – beyond its beneficial effect on bone - might have an important role in the therapy and prevention of 2DM and also in the protection of olanzapine-induced IR.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abdul-Ghani MA, Williams K, DeFronzo RA, Stern M. (2007) What is the best predictor of future type 2 diabetes? *Diabetes Care* 30: 1544–1548.
2. Adami S. (2009) Bone health in diabetes: considerations for clinical management. *Curr Med. Res Opin.* 25(5): 1057-72.
3. Allison DB, Casey DE. (2001) Antipsychotic-induced weight gain: a review of the literature. *J Clin Psychiatry.*; 62(suppl 7): 22-31.
4. Allison DB, Mentore JL, Heo M, Chandler LP, Cappelleri JC, Infante MC, Weiden PJ. (1999) Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis., *Am J Psychiatry.* 156(11): 1686-96. Review.
5. Althouse AD, Abbott JD, Sutton-Tyrrell K, Forker AD, Lombardero MS, Buitrón LV, Pena-Sing I, Tardif JC, Brooks MM; BARI 2D Study Group. (2013) Favorable effects of insulin sensitizers pertinent to peripheral arterial disease in type 2 diabetes: results from the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation 2 Diabetes (BARI 2D) trial. *Diabetes Care.*36(10): 3269-75.
6. American Diabetes Association. (2005) Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 28 (Suppl 1): S4 – S36
7. American Diabetes Association (2006) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 29(Suppl 1): S43-8.
8. American Diabetes Association, American Psychiatric Association, American Association of Clinical Endocrinologists, North American Association for the Study of Obesity (2004) Consensus Development Conference on Antipsychotic Drugs and Obesity and Diabetes. *Diabetes Care* 27: 596.
9. Baptista T, Martínez J, Lacruz A, Rangel N, Beaulieu S, Serrano A, Arapé Y, Martínez M, de Mendoza S, Teneud L, Hernández L. (2006) Metformin for prevention of weight gain and insulin resistance with olanzapine: a double-blind placebo-controlled trial. *Can J Psychiatry.* 51(3): 192-6.
10. Barak N, Greenway FL, Fujioka K, Aronne LJ, Kushner RF. (2008) Effect of histaminergic manipulation on weight in obese adults: a randomized placebo controlled trial. *Int J Obes (Lond).* 32(10): 1559-65.

11. Barkai L, Blatniczky L, Halmos T, Hidvégi T, Jermendy G, Kaló Z, Madácsy L, Vándorfi G, Winkler G, Wittmann I (2011) A nemzeti diabetesprogram létrehozásának indoka Diab Hung 19 (Suppl 3): 8-9.
12. Baron AD. (2002) Insulin resistance and vascular function. J Diabetes Complications. 16(1): 92-102.
13. Basu A, Meltzer HY (2006) Differential trends in prevalence of diabetes and unrelated general medical illness for schizophrenia patients before and after the atypical antipsychotic era. Schizophr Res. 86(1-3): 99-109.
14. Bárdos G, Móricz K, Jaszlits L, Rablóczyk G, Tory K, Rácz I, Bernáth S, Sümegi B, Farkas B, Literáti-Nagy B. and Literáti-Nagy P. (2003) BGP-15, a hydroximic acid derivative, protects against cisplatin- or taxol-induced peripheral neuropathy in rats. Toxicol Appl Pharmacol; 190: 9-16.
15. Bender AT, Silverstein AM, Demady DR, Kanelakis KC, Noguchi S, Pratt WB, Osawa Y. (1999) Neuronal nitric oxide synthase is regulated by the hsp90-based chaperone system in vivo. J Biol Chem 274: 1472–1478
16. Biró K., Jednákovits A., Kukorelli T., Hedegdűs E., Korányi L. (1997) Bimoclolmol (BRLP-42) ameliorates peripheral neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. Brain Res Bull. 44: 259-263.
17. Bock G, Chittilapilly E, Basu R, Toffolo G, Cobelli C, Chandramouli V, Landau BR, Rizza RA. (2007) Contribution of hepatic and extrahepatic insulin resistance to the pathogenesis of impaired fasting glucose: role of increased rates of gluconeogenesis. Diabetes. 56(6): 1703-11.
18. Bruce CR, Carey AL, Hawley JA, Febbraio MA. (2003) Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes. Diabetes; 52: 2338 – 2345.
19. Buday B, Horváth T, Kulcsár E, Salamon C, Literáti Nagy B, Barta K, Vitai M, Józsa R, Vecsei I, Bezzegh K, Kiss J, Péterfai E, Koltay L, Korányi L. (2007) A progrediáló inzulinrezisztencia hatása a glükózanyagcsere- csontállapot kapcsolatokra. Orv Hetil. 148: 1127-1133.
20. Buday B, Pach PF, Literati-Nagy B, Vitai M, Vecsei Z, Koranyi L. (2013) Serum osteocalcin is associated with improved metabolic state via adiponectin in

- females versus testosterone in males. Gender specific nature of the bone-energy homeostasis axis. *Bone* 57(1): 98-104.
21. Buday B, Pach PF, Literáti-Nagy B, Vitai M, Vecsei Z, Péterfai É, Korányi L (2012) Gender difference in bone – energy homeostasis: adiponectin versus testosterone mediated osteocalcin action in women versus men? *Diabetologia* 55 (Suppl.1): 538.
 22. Buday B, Literáti NB, Pach FP, Kulcsár E, Vitai M, Péterfai É, Korányi L. (2011a) Cathepsin K predicts glycaemic control and beta cell function in impaired glucose tolerant men: a new link between skeleton and energy homeostasis? *Diabetologia* 54 (Suppl.1): S1-S542.
 23. Buday B, Pach FP, Literati Nagy B, Vitai M, Korányi L. (2011b) Association between cathepsin K and energy homeostasis in postmenopausal women. *Diabetes* 60 (Suppl.1): A442-521.
 24. Calles-Escandon J, Cipolla M. (2001) Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev*, 22(1): 36-52.
 25. Cederholm J, Wibell L. (1990) Insulin release and peripheral sensitivity at the oral glucose tolerance test. *Diabetes Res Clin Pract.* 10(2): 167-75.
 26. Centers for Disease Control and Prevention. (2011) National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States, <http://www.cdc.gov/diabetes>
 27. Centers for Disease Control and Prevention (2007) National Diabetes Fact Sheet: Diabetes Public Health Resource <http://www.cdc.gov/diabetes>
 28. Chen H, Sullivan G, Quon MJ. (2005) Assessing the predictive accuracy of QUICKI as a surrogate index for insulin sensitivity using a calibration model. *Diabetes* 54: 1914–1925.
 29. Chen H, Sullivan G, Yue LQ, Katz A, Quon MJ. (2003) QUICKI is a useful index of insulin sensitivity in subjects with hypertension. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E804–E812.
 30. Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M, for The STOP-NIDDM Trial Research Group. (2002) Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet* 359: 2072–77.

31. Chung J, Nguyen AK, Henstridge DC, Holmes AG, Chan MH, Mesa JL, Lancaster GI, Southgate RJ, Bruce CR, Duff y SJ, Horvath I, Mestrl R, Watt MJ, Hooper PL, Kingwell BA, Vigh L, Hevener A, Febbraio MA. (2008) HSP72 protects against obesity-induced inzulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 1739 – 1744.
32. Clinical Safety Data Management (1995) Definitions and Standards for Expedited Reporting. ICH Topic E 2A CPMP/ICH/377/95.
33. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. (2005) Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 54 (Suppl 2): S97-107.
34. Dabelea D, Pettitt DJ, Hanson RL, Imperatore G, Bennett PH, Knowler WC. (1999) Birth weight, type 2 diabetes, and insulin resistance in Pima Indian children and young adults. *Diabetes Care*. 22(6):944-50.
35. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. (1979) Glucose clamp technique: a method for quantifying inzulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 237: E214-E223.
36. Eriksson KF, Lindgarde F. (1991) Prevention of type 2 (non-inzulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise. The 6-year Malmo feasibility study. *Diabetologia* 34: 891–98.
37. Elashoff M, Matveyenko AV, Gier B, Elashoff R, Butler PC (2011) Pancreatitis, pancreatic, and thyroid cancer with glucagon-like peptide-1–based therapies. *Gastroenterology*, 141(1): 150-156.
38. Feener EP, King GL. (2001) Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: role in cardiovascular disease. *Heart Fail Monit*, 1(3): 74-82.
39. Fontana J, Fulton D, Chen Y, Fairchild TA, MacCabe TJ, Fujita N, Tsuruo T, Sessa WC. (2002) Domain mapping studies reveal that the M domain of hsp90 serves as a molecular scaff old to regulate Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase and NO release. *Circ Res* 90: 866 – 873
40. Gacsályi B, Lakner G (2007) Humán fázis I-II vizsgálatok tervezése. „Klinikai gyógyszervizsgálatok tervezése” - kötelező szintentartó tanfolyam klinikai farmakológiából, SE-ÁOK/2007-01/00278
http://members.iif.hu/lakner/download/cikkek/kf/Human_fazis_I_II_vizsgalatok_tervezese_2007.pdf

41. Garber AJ, Handelsman Y, Einhorn D, Bergman DA, Bloomgarden ZT, Fonseca V, Garvey WT, Gavin JR 3rd, Grunberger G, Horton ES, Jellinger PS, Jones KL, Lebovitz H, Levy P, McGuire DK, Moghissi ES, Nesto RW. (2008) Diagnosis and management of prediabetes in the continuum of hyperglycemia: when do the risks of diabetes begin? A consensus statement from the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists. *Endocr Pract.*,14: 933-946.
42. García-Cardeña G, Fan R, Shah V, Sorrentino R, Cirino G, Papapetropoulos A, Sessa WC. (1998) Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature* 392: 821 – 824
43. Gerstein HC, Yusuf S, Bosch J, Pogue J, Sheridan P, Dinccag N, Hanefeld M, Hoogwerf B, Laakso M, Mohan V, Shaw J, Zinman B, Holman RR. DREAM (Diabetes REduction Assessment with ramipril and rosiglitazone Medication) Trial Investigators (2006) Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial. *Lancet.* 368: 1096–105.
44. Gillies CL , Abrams KR , Lambert PC , Cooper NJ , Sutton AJ , Hsu RT , Khunti K. (2007) Pharmacological and lifestyle interventions to prevent or delay type 2 diabetes in people with impaired glucose tolerance: systematic review and metaanalysis. *BMJ*; 10: 299
45. Gombos I, Crul T, Piotto S, Gungör B, Török Z, Balogh G, Péter M, Slotte PJ, Pilbat AN, Hunya A, Tóth N, Literati-Nagy Z, Vigh L, Jr, Glatz A, Brameshuber, M, Schütz GJ, Hevener A, Febbraio MA, Horváth I, Vigh L (2011) Membrane-lipid therapy in operation: the HSP co-inducer BGP-15 activates stress signal transduction pathways by remodeling plasma membrane rafts. *PLoS ONE* 6(12): e28818
46. Guntur AR, Rosen CJ. (2012) Bone as an endocrine organ. *Endocr Pract.* 18(5): 758-62.
47. Gutt M, Davis CL, Spitzer SB, Llabre MM, Kumar M, Czarnecki EM, Schneiderman N, Skyler JS, Marks JB. (2000) Validation of the insulin sensitivity index [ISI(0,120)]: comparison with other measures. *Diabetes Res Clin Pract* 47: 177–184.

48. Guyon I, Elisseeff A (2003) An Introduction to Variable and Feature Selection
Journal of Machine Learning Research 3: 1157-1182.
49. Gyűrűs É, Patterson C, Soltész Gy (2011) "Folyamatos emelkedő vagy csúcsok és fennsíkok?" A gyermekkori 1-es típusú diabetes incidenciája Magyarországon (1989-2009) Orv Hetil. 152(42): 1692-1697.
50. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP. (1997) The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. Diabetes Care 20: 1087–1092.
51. Hanley AJ, Williams K, Gonzalez C, D'Agostino RB Jr, Wagenknecht LE, Stern MP, Haffner SM (2003) San Antonio Heart Study; Mexico City Diabetes Study; Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Prediction of type 2 diabetes using simple measures of insulin resistance: combined results from the San Antonio Heart Study, the Mexico City Diabetes Study, and the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. Diabetes 52: 463–469.
52. Hanson RL, Pratley RE, Bogardus C, Narayan KM, Roumain JM, Imperatore G, Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Bennett PH, Knowler WC. (2000) Evaluation of simple indices of insulin sensitivity and insulin secretion for use in epidemiologic studies. Am J Epidemiol 151: 190– 198.
53. Hirosumi J, Tuncman G, Chang, Görgün CZ, Uysal K, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS (2002) A central role for JNK in obesity and insulin resistance. Nature; 420: 333 – 336
54. Hollenbeck C, Reaven GM. (1987) Variations in insulin-stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. J Clin Endocrinol Metab. 64(6): 1169-73
55. Hooper PL, Hooper JJ (2005) Loss of defense against stress: diabetes and heat shock proteins. Diabetes Technol Ther 7: 204–208.
56. Hooper PL, Hooper PL (2009) Inflammation, heat shock proteins, and type 2 diabetes. Cell Stress Chaperones 14: 113–115.
57. Hotamisligil GS (2006) Inflammation and metabolic disorders. Nature 444: 860–867.
58. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC (2001) Diet, Lifestyle, and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Women. N Engl J Med; 345: 790-797.

59. International Diabetes Federation (2014) IDF Diabetes Atlas update poster, 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.
60. International Diabetes Federation (2013). IDF Diabetes Atlas, 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, <http://www.idf.org/diabetesatlas>
61. Jermendy G (szerk.) (2011) A Magyar Diabetes Társaság szakmai irányelve, *Diab Hung* 19(Suppl 1): 5-72
62. Jin H, Meyer JM, Jeste DV. (2004) Atypical antipsychotics and glucose dysregulation: a systematic review. *Schizophr Res.* 71(2-3): 195-212.
63. Juhl CB, Hollingdal M, Pørksen N, Prange A, Lönnqvist F, Schmitz O. (2003) Influence of rosiglitazone treatment on beta-cell function in type 2 diabetes: evidence of an increased ability of glucose to entrain high-frequency insulin pulsatility. *J Clin Endocrinol Metab.* 88(8): 3794-800.
64. Kahn SE, Zinman B, Lachin JM, Haffner SM, Herman WH, Holman RR, Kravitz BG, Yu D, Heise MA, Aftring RP, Viberti G; Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT) Study Group. (2008) Rosiglitazone-associated fractures in type 2 diabetes: an Analysis from A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT). *Diabetes Care.* 31(5): 845-51.
65. Kashyap SR, Roman LJ, Lamont J, Masters BS, Bajaj M, Suraamornkul S, Belfort R, Berria R, Kellogg DL Jr, Liu Y, DeFronzo RA. (2005) Insulin resistance is associated with impaired nitric oxide synthase (NOS) activity in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab;* 90: 1100 – 1105.
66. Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ. (2000) Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(7): 2402-10.
67. Kelley D. E., He J., Menshikova E.V, Ritov V.B. (2002) Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 51: 2944–2950.
68. Kieran D , Kalmar B , Dick JR , Riddoch-Contreras J, Burnstock G, Greensmith L. (2004) Treatment with arimoclomol, a coinducer of heat shockproteins, delays disease progression in ALS mice. *Nat Med;* 10: 402 – 405.

69. Klöppel G, Löhr M, Habich K, Oberholzer M, Heitz PU. (1985) Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. *Surv Synth Pathol Res.* 4: 110–125.
70. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM; Diabetes Prevention Program Research Group. (2002) Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med.* 346(6): 393-403.
71. Kolonics A, Literati N.P, Horvath T, Kiss E, Matko J, Kulcsar E, Literati B, Barta K, Koranyi L.I, Tory K (2006) Mitochondrial status of lymphocytes shows correlation with metabolic state, *Diabetes* 55 (Suppl1): A143, 602.
72. Kolonics A, László L, Ábrahám Cs S, Literáti PN, Tory K. (2004) BGP-15, a hydroximic acid derivative induces HSP72, activates neuronal NOS and preserves mitochondria number in hyperglycemic rat brain endothelial cell models. *Fundam Clin Pharmacol.* 18 (Suppl 1): 23 – 126 P11.34.
73. Kolonics A, Literati-Nagy P, Peitl B, Bajza A, Jaszlits L, Laszlo L, Horvath T, Kulcsar E, Porszasz R, Paragh G, Bernath S, Literati B, Koranyi L, Szilvassy Z, Tory K, Roth J. (2006) BGP-15, a new type of inzulin sensitizer. *Diabetes;* 55 (Suppl 1): 2091 – PO.
74. Koranyi L, Buday B, Vitai M., Literati-Nagy B, Kulcsar E. (2009) Gender specific bone formation-energy metabolism connection in humans. *Diabetes* 58(Suppl 1): 2355-PO, A607.
75. Kraegen EW, Clark PW, Jenkins AB, Daley EA, Chisholm DJ, Storlien LH. (1991) Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes.* Nov;40(11): 1397-403.
76. Kurucz I, Morva A, Vaag A, Eriksson KF, Huang X, Groop L, Koranyi L. (2002) Decreased expression of heat shock protein 72 in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes correlates with insulin resistance. *Diabetes.* 51: 1102 – 1109.
77. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn DJ, Confavreux C, DAcquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-JArvis F, Ducy P, Karsenty G. (2007) Endocrin regulation of energy metabolism by skeleton. *Cell.* 130: 456-469.

78. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. (1998) Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care*. 21(12): 2191-2.
79. Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, Li H, Li H, Jiang Y, An Y, Shuai Y, Zhang B, Zhang J, Thompson TJ, Gerzoff RB, Roglic G, Hu Y, Bennett PH. (2008) The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet*. 24;371(9626): 1783-9.
80. Lindström J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, Uusitupa M, Tuomilehto J; Finnish Diabetes Prevention Study Group. (2003) The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity. *Diabetes Care*. 26(12): 3230-6.
81. Literáti-Nagy B, Buday B, Pach FP, Kulcsár E, Vitai M, Péterfai É, Korányi L. (2011) Testosterone: a possible mediator between bone remodeling and energy homeostasis *Diabetologia* 54 (Suppl.1): 542.
82. Literáti-Nagy Z, Tory K, Literáti-Nagy B, Kolonics A, Török Z, Gombos I, Balogh G, Vigh L Jr, Horváth I, Mandl J, Sümegi B, Hooper PL, Vigh L. (2012a) The HSP co-inducer BGP-15 can prevent the metabolic side effects of the atypical antipsychotics. *Cell Stress Chaperones* 17(4): 517-21.
83. Literati-Nagy Z, Tory K, Literáti-Nagy B, Kolonics A, Vigh L Jr, Vigh L, Mandl J, Szilvássy Z. (2012b) A novel insulin sensitizer drug candidate-BGP-15-can prevent metabolic side effects of atypical antipsychotics. *Pathol Oncol Res*. 18(4): 1071-6.
84. Lowell BB, Shulman GI. (2005) Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science*. 307: 384-387.
85. Malyshev IY, Manukhina EB, Mikoyan VD, Kubrina LN, Vanin AF. (1995) Nitric oxide is involved in heat-induced HSP70 accumulation. *FEBS Lett* 370: 159–62.
86. Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. (2001) A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 24: 539–548.

87. Matsuda M, DeFronzo RA. (1999) Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 22(9): 1462-70.
88. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412–419.
89. McCarty MF. (2006) Induction of heat shock proteins may combat insulinresistance. *Med. Hypotheses*; 66: 527 – 534.
90. Meyer JM, Koro CE. (2004) The effects of antipsychotic therapy on serum lipids: a comprehensive review. *Schizophr Res.*;70(1): 1-17.
91. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. (2008) Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 294(1): E15-26.
92. Muoio DM, Newgard CB. (2004) Insulin resistance takes a trip through the ER. *Science*. 306: 425-426.
93. Murphy CE, Rodgers PT. (2007) Effects of thiazolidinediones on bone loss and fracture. *Ann Pharmacother*. 41(12): 2014-8.
94. Nedvetsky PI. (2002) There's NO binding like NOS binding: protein-protein interactions in NO/cGMP signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* ; 99: 16510 – 16512
95. Neumann A, Weill A, Ricordeau P, Fagot JP, Alla F, Allemand H. (2012) Pioglitazone and risk of bladder cancer among diabetic patients in France: a population-based cohort study. *Diabetologia*, 55 (7): 1953-1962.
96. Newcomer JW. (2005) Second-generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects: a comprehensive literature review. *CNS Drugs*. 19 (Suppl 1): 1- 93.
97. Nissen SE, Wolski K. (2007) Effect of Rosiglitazone on the Risk of Myocardial Infarction and Death from Cardiovascular Causes. *N Engl J Med*, 356: 2457-2471.

98. Nissen SE , Wolski K , Topol EJ. (2005) Effect of rosiglitazone on death and major adverse cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus JAMA; 294: 2581 – 2586.
99. Országos Táplálkozás és Tápláltsági Állapot Vizsgálat (OTÁP) 2009, Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet
100. Park HS , Lee JS , Huh SH , Seo JS , Choi EJ . (2001) Hsp72 functions as a natural inhibitory protein of c-Jun N-terminal kinase . EMBO J; 20: 446 – 456
101. Perez-Iglesias R, Crespo-Facorro B, Amado JA, Garcia-Unzueta MT, Ramirez-Bonilla ML, Gonzalez-Blanch C, Martinez-Garcia O, Vazquez-Barquero JL. (2007) A 12-week randomized clinical trial to evaluate metabolic changes in drug-naive, first-episode psychosis patients treated with haloperidol, olanzapine, or risperidone. J Clin Psychiatry. 68(11): 1733-40.
102. Perreault L, Pan Q, Mather KJ, Watson KE, Hamman RF, Kahn SE; Diabetes Prevention Program Research Group. (2012) Effect of regression from prediabetes to normal glucose regulation on long-term reduction in diabetes risk: results from the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. Lancet. 379(9833): 2243-51.
103. Porszasz R, Legvari G, Pataki T, Szilvassy J, Nemeth J, Kovacs P, Paragh G, Szolcsanyi J, Szilvassy Z. (2003) Hepatic insulin sensitizing substance: a novel sensorine mechanism to increase insulin sensitivity in anaesthetized rats. Br J Pharmacol 139: 1171-1179.
104. Praharaj SK, Jana AK, Goyal N, Sinha VK . (2011) Metformin for olanzapine-induced weight gain: a systematic review and meta-analysis. Br J Clin Pharmacol. Mar;71(3): 377-82.
105. Quyyumi, A. A. (1998) Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. Am J Med 105: 32S–39S.
106. Rablóczyk G, Jaszlits L, Bardos G, Sumegi B, Tory K, Racz I, Farkas B, Sandor A, Berente Z, Osz E, Szilvassy J, Sziklai I, Bernath S, Literati Nagy P. Chemoprotective Effect of a Novel PARP Inhibitor. In: Jie Zhang (ed) PARP as a Therapeutic Target. CRC Press Boca Raton, London, New York, Washington, D.C. 2002: 257-277.

107. Racz I, Tory K, Gallyas F Jr, Berente Z, Osz E, Jaszlits L, Bernath S, Sumegi B, Rablóczy G, Literati-Nagy P. (2002) BGP-15 – a novel poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor – protects against nephrotoxicity of cisplatin without compromising its antitumor activity. *Biochem Pharmacol* 63: 1099 – 1111.
108. Reddy GK, Stehno-Bittel L, Hamade S, Enwemeka CS. (2001) The biomechanical integrity of bone in experimental diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.*; 54: 1-8.
109. Rosato MT, Schneider SH, Shapses SA. (1998) Bone turnover and insulin-like growth factor 1 levels increase after improved glycemic control in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int.* 63: 107-111.
110. Ross, R. (1999) Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340: 115–126.
111. Roy D, Perreault M, Marette A. (1998) Insulin stimulation of glucose uptake in skeletal muscles and adipose tissues in vivo is NO dependent. *Am J Physiol.*;274: E692-E699.
112. Sacher J, Mossaheb N, Spindelegger C, Klein N, Geiss-Granadia T, Sauermann R, Lackner E, Joukhadar C, Müller M, Kasper S. (2008) Effects of olanzapine and ziprasidone on glucose tolerance in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology.* 33(7): 1633-41.
113. Sadri P, Lutt WW. (1999) Blockade of hepatic nitric oxide synthase causes insulin resistance. *Am J Physiol.* 277: G101 – G108
114. Schwartz AV, Vittinghoff E, Bauer DC, Hillier TA, Strotmeyer ES, Ensrud KE, Donaldson MG, Cauley JA, Harris TB, Koster A, Womack CR, Palermo L, Black DM; Study of Osteoporotic Fractures (SOF) Research Group; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Research Group; Health, Aging, and Body Composition (Health ABC) Research Group. (2011) Association of BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes. *JAMA.* 305(21): 2184-92.
115. Schwartz, A.V. (2003) Diabetes mellitus: Does it affect bone? *Calcif.tissue Int.* 73: 515-519.

116. Shankar RR, Wu Y, Shen HQ, Zhu JS, Baron AD. (2000) Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance. *Diabetes*; 49: 684 – 687.
117. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. (2010) Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.*;87(1): 4-14.
118. Shulman GI. (2000) Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 106(2): 171-6.
119. Silha JV, Krsek M, Skrha JV, Sucharda P, Nyomba BL, Murphy LJ. (2003) Plasma resistin, adiponectin and leptin levels in lean and obese subjects: correlations with insulin resistance. *Eur J Endocrinol.* 149(4): 331-5.
120. Sosa M, Saavedra P, Jódar E, Lozano-Tonkin C, Quesada JM, Torrijos A, Pérez-Cano R, Nogués X, Díaz-Curiel M, Moro MJ, Gómez C, Mosquera J, Alegre J, Olmos J, Muñoz-Torres M, Guañabens N, Del Pino J, Hawkins F; GIUMO Study Group. (2009) Bone mineral density and risk of fractures in aging, obese postmenopausal women with type 2 diabetes. The GIUMO Study. *Aging Clin Exp Res.* 21(1): 27-32.
121. Soti C, Nagy E, Giricz Z, Vigh L, Csermely P, Ferdinandy P. (2005) Heat shock proteins as emerging therapeutic targets. *Br J Pharmacol.* 146: 769
122. Sowell MO, Mukhopadhyay N, Cavazzoni P, Shankar S, Steinberg HO, Breier A, Beasley CM Jr, Dananberg J. (2002) Hyperglycemic clamp assessment of insulin secretory responses in normal subjects treated with olanzapine, risperidone, or placebo. *J Clin Endocrinol Metab.* 87(6): 2918-23.
123. Sümegi B, Rablóczky G, Rácz I, Tory K, Bernáth S, Várbíró G, Gallyas F Jr, Literati Nagy P: Protective Effect of poly (ADP-ribose) Polymerase Inhibitors against Cell Damage Induced by Antiviral and Anticancer Drugs. In: Szabó C (ed), *Cell Death- The Role of Poly (ADP-Ribose) Polymerase*, CRC Press Boca Raton, London, New York, Washington, D.C. 2000: 167-181.
124. Tamborlane WV, Klingensmith G. (2013) Crisis in care: limited treatment options for type 2 diabetes in adolescents and youth. *Diabetes Care.* 36(6): 1777-8.
125. Taniguchi, C.M., Emanuelli, B., Kahn, C.R. (2006) Critical nodes in signaling pathways: insights into insulin action. *Nat.Rev.Mol. Cell Biol.* 7: 85-96.

126. The Diabetes Prevention Program Research Group. (2005) Impact of intensive lifestyle and metformin therapy on cardiovascular disease risk factors in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care* 28: 888 – 894.
127. TODAY Study Group. (2013) Rapid Rise in Hypertension and Nephropathy in Youth With Type 2 Diabetes: The TODAY clinical trial. *Diabetes Care*. 36(6): 1735-41
128. Tory K, Literati-Nagy P, Literáti-Nagy B, Buday B, Kulcsar E, Peterfai E, Koranyi L, Vitai M, Koltay L (2008) Evidence of the osteocalcin-glucose utilization feed-back connection in humans. *Diabetes*, 57(Suppl.1): A707:2597.
129. Tooke, J. E. (1995) Microvascular function in human diabetes: a physiologic perspective. *Diabetes* 44: 721–726.
130. Traish AM, Saad F, Guay A. The dark side of testosterone deficiency: II. Type 2 diabetes and insulin resistance (2009) *J Androl*. 30(1): 23-32.
131. Tuominen JT, Impivaara O, Puukka P, Rönnemaa T. (1999) Bone mineral density in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 22(7): 1196-200.
132. Vigh L., Literáti P.N., Horváth I., Török Z., Balogh G., Glatz A., Kovács E., Boros I., Ferdinándy P., Farkas B., Jaszlits L., Jednákovits A., Korányi L., Maresca B. (1997) Bimoclomol: A nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects. *Nature Med*. 3: 1150-1154.
133. Vondra K., Rath R., Bass A., Slabochová Z., Teisinger J., Vítek V. (1977) Enzyme activities in quadriceps femoris muscle of obese diabetic male patients. *Diabetologia* 13(5): 527-529.
134. Wallace TM , Levy JC , Matthews DR . (2004) Use and abuse of HOMA modelling. *Diabetes Care*; 27: 1487 – 1495.
135. Wallenstein S, Zucker CL, Fleiss JL (1980) Some statistical methods useful in circulation research. *Circ Res*. 47(1): 1-9.
136. Winkler G, Hídvégi T, Vándorfi Gy, Balogh S, Jermendy Gy (2011) Kockázatalapú diabétesz-szűrés háziiorvosi praxisokban, felnőtt egyének körében *Diab Hung* 19(2): 111-122.

137. Winkler G. Orális antidiabetikus kezelés. In: Winkler G, Baranyi É (szerk.) Gyakorlati Diabetológia. Melánia Kiadó Kft. Budapest 2010: 87-114.
138. Wirshing DA, Boyd JA, Meng LR, Ballon JS, Marder SR, Wirshing WC. (2002) The effects of novel antipsychotics on glucose and lipid levels. *J Clin Psychiatry.* 63(10): 856-865.
139. Wu RR, Zhao JP, Jin H, Shao P, Fang MS, Guo XF, He YQ, Liu YJ, Chen JD, Li LH. (2008) Lifestyle intervention and metformin for treatment of antipsychotic-induced weight gain: a randomized controlled trial. *JAMA* 299(2): 185-93.
140. Yki-Järvinen H. (2004) Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 351(11): 1106-18.
141. Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI. (2002) Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem.* 277(52): 50230-6.
142. Zierath JR, Laakso M, Marchand-Brustel YL, Roden M, Stumvoll M. (2010) DIAMAP FSG 3. Pathophysiology, metabolism and integrative physiology.

11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A tézisek alapjául szolgáló közlemények:

1. **Literáti-Nagy B**, Tory K, Peitl B, Bajza A, Korányi L, Literáti-Nagy Z, Hooper PL, Vigh L, Szilvássy Z. (2014) Improvement of insulin sensitivity by a novel drug candidate, BGP-15, in different animal studies. *Metab Syndr Relat Disord.* 12(2): 125-131
2. **Literáti-Nagy B**, Péterfai E, Kulcsár E, Literáti-Nagy Z, Buday B, Tory K, Mandl J, Sümegi B, Fleming A, Roth J, Korányi L. (2010) Beneficial effect of the insulin sensitizer (HSP inducer) BGP-15 on olanzapine-induced metabolic disorders. *Brain Res Bull* 83: 340–344
3. **Literáti-Nagy B**, Kulcsár E, Literáti-Nagy Z, Buday B, Péterfai E, Horváth T, Tory K, Kolonics A, Fleming A, Mandl J, Korányi L. (2009) Improvement of insulin sensitivity by a novel drug, BGP-15, in insulin resistant patients. A proof of concept randomized double-blind clinical trial. *Horm Metab Res.* 41(5): 374-80.
4. Buday B, Horváth T, Kulcsár E, Salamon C, **Literáti-Nagy B**, Barta K, Vitai M, Józsa R, Vecsei I, Bezzegh K, Kiss J, Péterfai E, Koltay L, Korányi L. (2007) A progrediáló inzulinrezisztencia hatása a glükózanyagcsere- csontállapot kapcsolatokra. *Orv Hetil.* 148: 1127-1133.

A dolgozat témájához szorosan nem kapcsolódó közlemények:

1. Buday B, Pach FP, **Literati-Nagy B**, Vitai M, Vecsei Z, Koranyi L. (2013) Serum osteocalcin is associated with improved metabolic state via adiponectin in females versus testosterone in males. Gender specific nature of the bone-energy homeostasis axis. *Bone* 57(1): 98-104.
2. Kovács G, Buday B, Fék A, **Literáti-Nagy B**, Pauer J, Pach P, Vitai M, Péterfai E, Korányi L. (2013) Anyagcsere-eltérések a 2-es típusú cukorbetegség egészséges, elsőfokú nőrokonaiban. *Orv Hetil.* 154 (44): 1747-1753.
3. Literati-Nagy Z, Tory K, **Literáti-Nagy B**, Bajza A, Vigh L Jr, Vigh L, Mandl J, Szilvássy Z. (2013) Synergic insulin sensitizing effect of rimonabant and BGP-15 in Zucker-obese rats. *Pathol Oncol Res.* 19(3):571-5.
4. Pauer J, Fék A, Buday B, **Literati-Nagy B**, Pach PF, Vitai M, Péterfai E, Koranyi L. (2013) Anyagcsere-eltérések 2-es típusú cukorbetegség egészséges elsőfokú férfi rokonaiban. *Orv Hetil.* 154: 178-186.
5. Buday B, Vitai M, Pach P, **Literáti-Nagy B**, Péterfai E, Bezzegh K, Pauer J, Koranyi L. (2012) Csontállapot „prediabetesben”. A csontdenzitás és az energiaháztartás kapcsolata a 2-es típusú diabetes mellitus manifesztációja előtt. *LAM-KID* 2(2): 5-13.
6. Literáti-Nagy Z, Tory K, **Literáti-Nagy B**, Kolonics A, Török Z, Gombos I, Balogh G, Vigh L Jr, Horváth I, Mandl J, Sümegi B, Hooper PL, Vigh L. (2012) The HSP co-inducer BGP-15 can prevent the metabolic side effects of the atypical antipsychotics. *Cell Stress Chaperones* 17(4): 517-21.
7. Literati-Nagy Z, Tory K, **Literáti-Nagy B**, Kolonics A, Vigh L Jr, Vigh L, Mandl J, Szilvássy Z. (2012) A novel insulin sensitizer drug candidate-BGP-15 can prevent metabolic side effects of atypical antipsychotics. *Pathol Oncol Res.* 18(4): 1071-6.
8. Buday B, Pach P, **Literáti-Nagy B**, Vecsei Z, Korányi L: A csontátépülés és az energia háztartás nőkre jellemző kapcsolatai. *LAM-KID* 2011;1(2): 30-35.
9. Kiss J, Buday B, **Literáti-Nagy B**, Faluközi J, Fogarassy G, Apró D, Vecsei I, Fék A, Veress G, Korányi L (2011) A koszorúérbetegség és a csontállapot

kapcsolata másképp: a lumbalis csigolyadenitász a koszorúérbetegség pozitív prediktora nőkben? LAM KID;1(3): 43-47

10. Vitai M, Kocsordi K, Buday B, **Literáti Nagy B**, Kulcsár E, Bezzegh K, Péterfai E, Koltay L, Korányi L. (2010) Nemhez kötött a katalazgén-polimorfizmus (RS769217) hatása az energia-háztartásra és a csontok állapotára. Orv Hetil. 151(23): 923-31.
11. Vitai M, Buday B, Kulcsár E, **Literáti-Nagy B**, Vecsei I, Bezzegh K, Péterfai E, Kurucz I, Korányi L. (2009) A GRB10 gén (+11275G > A) polimorfizmusának hazai előfordulása és kapcsolata a cukoranyagcserével. Orv Hetil. 150(40): 1845-51.
12. Buday B, Kulcsár E, **Literáti-Nagy B**, Horváth T, Vitai M, Vecsei I, Bezzegh K, Kiss J, Péterfai E, Koltay L, Korányi L (2008) Az osteocalcin helye a humán cukor- és csontanyagcsere kapcsolatában. Orv Hetil. 149: 2453-2461.
13. Buday B, Horváth T, **Literáti Nagy B**, Kulcsár E, Barta K, Salamon Cs, Péterfai E, Korányi L (2007) A hagyományosan használt inzulinrezisztencia- és béta-sejt-funkciós indexek diagnosztikus értéke. Diab Hung 15: 93-105
14. Bárdos G, Móricz K, Jaszlits L, Rablóczy G, Tory K, Rác I, Bernáth S, Sümegi B, Farkas B, **Literáti- Nagy B**. and Literáti- Nagy P. (2003) BGP-15, a hydrohmic acid derivative, protects against cisplatin- or taxol-induced peripheral neuropathy in rats. Toxicol Appl Pharmacol; 190: 9-16.

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom konzulensemnek (témavezetőmnek) Dr. Korányi László professzor úrnak, a DRC Gyógyszervizsgáló Központ vezetőjének, azért a támogatásért, tudományos iránymutatásért, amelyre munkám során mindig támaszkodhattam.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Szilvássy Zoltán, Dr. Mandl József, Dr. Vígh László és Dr. Sümegi Balázs egyetemi tanároknak, Dr. Peitl Barnának, Dr. Tory Kálmánnak, Dr. Kolonics Attilának, Dr. Bajza Ágnesnek, Dr. Buday Barbarának, Dr. Kulcsár Enikőnek, Harangozó Hajnalkának, Dr. Vitai Mártának, Kovács Györgyinek, Vecsei Zsuzsának, Dr. Philip Hoopernek, Dr. Peter Damsbonak, hogy munkámat támogatták és nélkülözhetetlen szakmai segítségükkel nagymértékben hozzájárultak munkám sikeréhez.

Köszönöm Dr. Paragh György egyetemi tanárnak és Dr. Péterfai Évának, hogy kutatómunkámat lehetővé tették.

Külön köszönöm Dr. Horváth Tündének és Dr. Salamon Csabának, hogy a clamp technika elsajátításában segítettek.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak, Édesapámnak, húgomnak, hogy céljaim elérésében támogattak, és szeretetükre, megértésükre mindig támaszkodhattam.