

AZ ÚJ CUKORBETEGSÉG ELLENES GYÓGYSZERJELÖLT

BGP-15

HATÁSA MÁSODIK GENERÁCIÓS ANTIPSZICHOTIKUMOK  
METABOLIKUS MELLÉKHATÁSAIRA

Doktori értekezés

**Dr. Literati-Nagy Zsuzsanna**

Semmelweis Egyetem

Molekuláris Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Mandl József egyetemi tanár, MTA r. tagja

Dr. Vigh László egyetemi tanár, MTA r. tagja

Hivatalos bírálók: Dr. Fekete Andrea tanársegéd, Ph.D.

Dr. Veres Balázs Ph.D., med. habil.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Tretter László egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Monostory Katalin Ph.D.

Dr. Sármán Beatrix egyetemi adjunktus, Ph.D.

Budapest 2013

**1 TARTALOMJEGYZÉK**

1	TARTALOMJEGYZÉK.....	2
2	RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	5
3	BEVEZETÉS.....	8
4	IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	10
4.1	ATÍPUSOS ANTIPSZICHOTIKUMOK.....	10
4.1.1	AAPD-k által okozott testsúlynövekedés.....	10
4.1.1.1	Testsúlynövekedés patomechanizmusa.....	11
4.1.1.1.1	Szerotonin receptor.....	12
4.1.1.1.2	Hisztamin-1 receptor.....	13
4.1.1.1.3	Étvágyszabályozó hormonok.....	14
4.1.2	AAPD által kiváltott diszlipidémia.....	15
4.1.2.1	Diszlipidémia kialakulásának patomechanizmusa.....	15
4.1.3	AAPD által okozott inzulin rezisztencia.....	16
4.1.3.1	Inzulin rezisztencia kialakulásának patomechanizmusa.....	16
4.1.3.1.1	TGF $\beta$ - SMAD3.....	18
4.1.4	Az atípusos antipszichotikumok mellékhatásainak kezelése.....	18
4.2	AZ AAPD ÉS A KRÓNIKUS METABOLIKUS STRESSZ TALAJÁN KIALAKULÓ INZULIN REZISZTENCIA KAPCSOLATA.....	20
4.2.1	Gyulladásos mediátorok.....	20
4.2.2	Endoplazmás Retikulum stressz.....	23
4.2.3	Mitochondriális diszfunkció.....	24
4.2.4	Membrán elváltozások diabéteszben.....	26
4.3	HŐSOKKFEHÉRJÉK.....	27
4.4	HŐSOKKFEHÉRJE INDUKÁLÓ MOLEKULÁK.....	31
4.5	BGP-15 ÚJ TÍPUSÚ INZULINÉRZÉKENYÍTŐ.....	32

5	CÉLKITŰZÉSEK.....	38
6	MÓDSZEREK.....	40
6.1	<i>IN VITRO</i> VIZSGÁLATOK.....	40
6.2	ÁLLATKÍSÉRLETEK .....	40
6.3	HUMÁN KLINIKAI- FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK RÉSZEKÉNT VÉGZETT <i>EX VIVO</i> VIZSGÁLATOK .....	43
7	EREDMÉNYEK.....	44
7.1	SEJTKULTÚRÁKON VÉGZETT VIZSGÁLATOK.....	44
	7.1.1 Klozapin és BGP-15 hatásának vizsgálata 3T3-L1 sejtek lipid droplet képzésére FACS módszerrel .....	44
7.2	ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK.....	46
	7.2.1 A BGP-15 hatása a riszperidon által okozott metabolikus változásokra egészséges patkányokon .....	47
	7.2.2 BGP-15 hatása a krónikus klozapin kezelés következtében kialakult metabolikus változásokra.....	50
	7.2.2.1 BGP-15 hatása a krónikus klozapin kezelés következtében kialakult inzulin rezisztenciára .....	51
	7.2.2.2 BGP-15 hatásának vizsgálata a klozapin által okozott testsúlynövekedésre	52
	7.2.3 BGP-15 hatásának vizsgálata akut olanzapin kezelés által okozott metabolikus változásokra.....	54
	7.2.4 A BGP-15 protektív hatásának összehasonlítása a klinikumban használt más antidiabetikumokkal krónikus olanzapin kezeléssel kiváltott metabolikus változásokra.....	56
	7.2.5 BGP-15 és rimonabant metabolikus hatásainak együttes vizsgálata .....	59
	7.2.5.1 BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata.....	59
	7.2.5.2 BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatás mechanizmusában a kapszaicin szignál szerepének vizsgálata.....	60
7.3	HUMÁN KLINIKAI FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK RÉSZEKÉNT VÉGZETT <i>EX VIVO</i> VIZSGÁLATOK .....	62

7.3.1	Olanzapin és olanzapin + BGP-15 kezelés hatásának összehasonlítása a HSP72 expresszióra egészséges önkéntesek perifériás magvas vérséjtjeiben .....	62
8	MEGBESZÉLÉS .....	66
9	KÖVETKEZTETÉSEK .....	72
10	ÖSSZEFOGLALÁS .....	73
11	SUMMARY .....	74
12	IRODALOM JEGYZÉK.....	75
13	SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE.....	95
14	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....	97

## 2 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

5-HT	5 Hidroxitriptamin
$\alpha$ R	$\alpha$ -adrenerg receptor
$\beta$ R	$\beta$ -adrenerg receptor
AAPD	Atipusos antipszichotikum
ACC	Acetil-koenzimA karboxiláz
AGE	Endogén glikált végtermék
Akt	Protein kináz B
ALS	Amiotrófiás lateral szklerózis
AMPK	Adenozin monofoszfát kináz
ATF6	Aktiváló transzkripció faktor 6
AUC	Area under the curve
B. I. D.	Bis in die – kétszer egy nap
BMI	Testtömeg index
CB1	Kannabinoid receptor 1
CCK	Kolecisztokinin
Chol	Koleszterin
DEX	Dexametazon
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's minimal essential medium
DM	Diabétesz mellitusz
ECL	Enhanced chemiluminescence reaction
EDTA	Etilén-diamin-tetraacetát
ER	Endoplazmás retikulum
FACS	Fluorescent activated cell sorter
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GK	Goto Kakizaki
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
H-1R	Hisztamin 1 receptor
HA	Hidroxymic acid (Hidroximsav)
HBA1c	Hemoglobin A1c
HDL	High density lipoprotein
HEGC	Hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz klem

HSE	Hősokkelem
HSF	Hősokkfaktor
HSP	Hősokkprotein
HSR	Hősokkválasz
IBMX	3-isobutyl-1-methylxanthine
IGT	Impaired glucose tolerance (károsodott cukor tolerancia)
IKK	Inhibitor of kappa B kináz
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 $\beta$
IL-6	Interleukin 6
IR	Inzulin rezisztencia
IRE1	Inozitol requiring enzim 1
IRS-1	Inzulin receptor szubsztrát-1
JNK	c-Jun N-terminal kinase
kDa	KiloDalton
LPS	Lipopoliszacharid
MCP-1	Monocita kemoattraktáns protein 1
MIF	Makrofág migrációt gátló faktor
mRNS	Messenger Ribonukleinsav
mtNOS	Mitokondriális NO szintáz
NF $\kappa$ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
OGTT	Orális glukóz tolerancia teszt
PAI-1	Plazminogén aktivátor inhibitor 1
PBS	Phosphate buffered saline
PBMC	Perifériás vér mononukleáris sejt
PDK-1	3 foszfoinozitol dependens kináz 1
PERK	Hasnyálmirigy ER kináz (PKR)-szerű ER kináz
PI3K	Foszfatidil-inozitol 3 kináz
PIP2	Foszfatidil inozitol (4,5) bifoszfát
PIP3	Foszfatidil inozitol (3,4,5) trifoszfát
PKC	Protein kináz C
PVDF	Polivinilidén-difluorid
PYY	Peptid YY
Rac1	Ras-related C3 botulinum toxin szubsztrát 1
RAGE	Előrehaladott glikált végtermék receptor

ROS	Reactive oxygen species
sHSP	Kis molekulásuljú hősokkfehérjék
SAA	Szérúm amiloid A
S.D.	Sztenderd deviancia
SDS	Sodium dodecyl sulphate (nátrium-lauril-szulfát)
SM	Szfingomielin
SMS	Szfingomielin szintáz
SSC	Side scatter
TBS	Tris base, saline
TG	Triglicerid
TGF $\beta$	Transzformáló növekedési faktor $\beta$
TGF $\beta$ RI	Transzformáló növekedési faktor $\beta$ receptor I
TGF $\beta$ RII	Transzformáló növekedési faktor $\beta$ receptor II
TLR	Toll like receptor
TNF $\alpha$	Tumor nekrozis faktor $\alpha$
TRPV1	Tranziens receptor potenciál vanilloid 1
TZD	Tiazolidindion
UPR	Unfolded protein response
VLDL	Very low density lipoprotein
WHO	World Health Organisation

### 3 BEVEZETÉS

Az életmódváltozás következtében az elhízás és ezzel összefüggésben a cukorbetegség gyakorisága világszerte folyamatosan nő. Olyan területeken is, ahol előfordulásuk korábban nem volt jellemző, mint Kína, India, az arab világ, robbanásszerű növekedésüknek lehetünk tanúi.

Az életkörülmények és az orvostudomány rohamos fejlődése következtében jelentősen növekszik az átlagos élettartam. A kor előrehaladtával több, nagy populációt érintő betegség, mint obezitás, diabétesz, metabolikus szindróma, szív és keringési megbetegedések (stroke, infarktus), neurodegeneratív betegségek (Alzheimer kór) és daganatos betegségek incidenciája nő. Ezért is nevezi manapság az irodalom, mind gyakrabban ezeket a patológiás állapotokat „age-related disease”-nek avagy öregedési betegségeknek. Az öregedési folyamatok felderítése kiemelt fontosságúvá vált. Ma már egyértelműen bizonyított, hogy a stresszfehérjék ezeknek a folyamatoknak kulcsfontosságú szereplői. A chaperonok alapvető szerepet játszanak a sejt fehérjék és sejt szervecskék minőségi kontrolljában, a fehérjék funkció képességének megtartásában a különböző stresszhatásokkal és az öregedéssel szemben. A chaperonok ugyancsak nélkülözhetetlenek egyes szignalizációs utak, így az inzulin jelátvitel normális működéséhez. Inzulin rezisztenciában a chaperon szint csökkenését mutatták ki. Egyre több adat utal arra, hogy az inzulin szignalizáció nem megfelelő működése nem csak a diabétesz pathomechanizmusában, hanem a neurodegeneratív betegségekben (Alzheimer kór) és a daganatos megbetegedések kialakulásában is fontos szerepe van. Mindezek alapján várható, hogy a chaperonok működését befolyásoló gyógyszerek több öregedési betegség kezelésében is hatékonyak lehetnek. A hidroximsav származékokhoz tartozó BGP-15 az egyik legelőrehaladottabb vizsgálati fázisban lévő, bizonyítottan stresszfehérje indukáló hatású gyógyszerjelölt. *In vitro*, és *in vivo* inzulin rezisztencia modelleken valamint humán klinikai vizsgálatok során bizonyították a vegyület inzulinérzékenyítő hatását.

A súlyos pszichiátriai betegek gyógyszeres kezelésében áttörést jelentett az antipszichotikumok felfedezése. A ma típusosnak nevezett antipszichotikumok (klórpromazin, haloperidol) azonban súlyos, a mozgást korlátozó extrapiramidális mellékhatásokkal rendelkeznek. A később fejlesztett úgynevezett atípusos vagy második generációs antipszichotikumok, melyeknek fő képviselői a klozapin, olanzapin, riszperidon, azonban nem, vagy csak kis mértékben okoznak extrapiramidális zavarokat. Többéves klinikai



használat után derült ki, hogy az atípusos antipszichotikumok sem mentesek súlyos mellékhatásoktól.

A második generációs antipszichotikumok hosszútávon olyan súlyos következményekkel járó metabolikus mellékhatásokkal bírnak, mint testsúlygyarapodás, inzulin rezisztencia és kóros zsír anyagcsere. Jelenleg a metabolikus mellékhatások kivédésére nincs megfelelő gyógyszeres terápia. A BGP-15 fejlesztésének egyik célja pontosan az, hogy az ilyen típusú mellékhatások mérsékelhetőek legyenek.

## 4 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 4.1 ATÍPUSOS ANTIPSZICHOTIKUMOK

A WHO 2007-es adatai alapján, a világon közel 54 millió ember szenved valamilyen súlyos pszichiátriai betegségben (WHO 2007). Súlyos pszichiátriai betegségek, mint skizofrénia, bipoláris depresszió elsődleges kezelésére használt gyógyszerek, az atípusos antipszichotikus szerek (AAPD), mint klozapin (Clozaril), olanzapin (Zyprexa), riszperidon (Risperdal). Becslések szerint 2008-ban 14,3 millió amerikai részesült antipszichotikus terápiában, melynek következtében az AAPD-k a leggyakrabban felírt gyógyszerek az USA-ban (Alexander és mtsai 2011).

Az elmúlt évtizedben a klinikusok és kutatók körében növekvő aggodalmat keltettek az AAPD-k súlyos metabolikus mellékhatásai, mint testsúlynövekedés, diszlipidémia és glukóz intolerancia (Allison és mtsai 2001; Newcomer 2005; Wirshing és mtsai 2002; Jin és mtsai 2004; Meyer és mtsai 2004). Ezek a mellékhatások jelentősen csökkentik a betegek gyógyszereszedési hajlandóságát és fokozzák a kardiovaszkuláris megbetegedések kockázatát. Az atípusos antipszichotikumok által kiváltott fenti mellékhatások nyilvánvalóan összefüggenek, de a három fő mellékhatást az AAPD-k egymástól függetlenül is kiváltják.

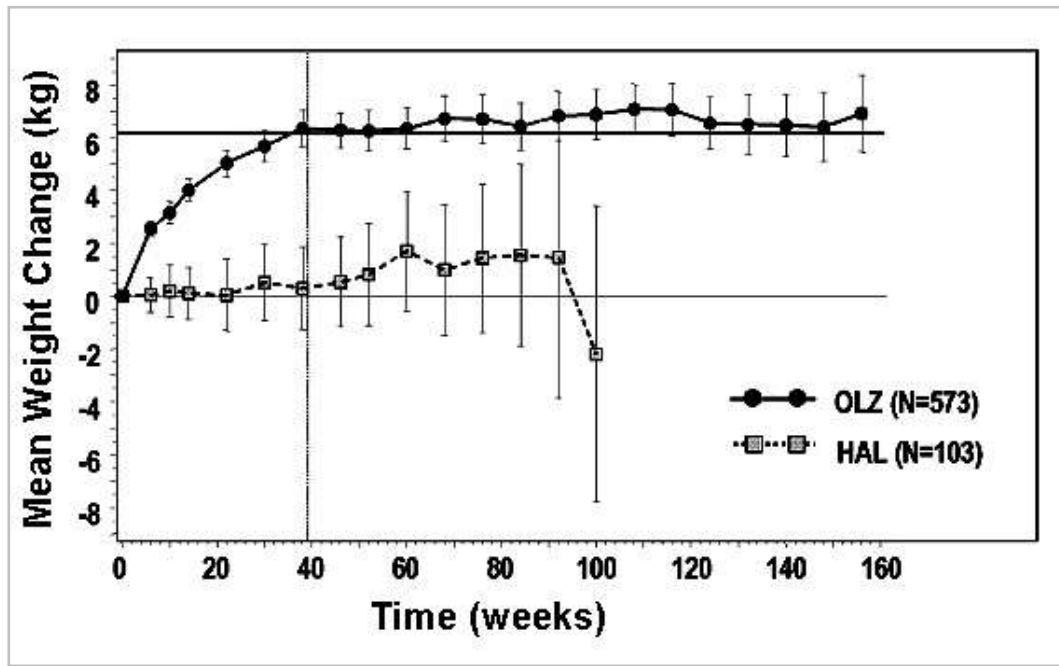
#### 4.1.1 AAPD-k által okozott testsúlynövekedés

Epidemiológiai vizsgálatok adatai alapján a mentális betegségben szenvedők körében a túlsúly kialakulásának kockázata kétszeres az átlag populációhoz képest (Panariello és mtsai 2010). Ezt a jelentősen fokozott elhízási kockázatot tovább növelik az atípusos antipszichotikus szerek.

Az összes antipszichotikum esetében megfigyelhető a testsúlyt növelő mellékhatás, azonban a legnagyobb testsúlynövekedéstirodalmi adatok alapján a klozapin és az olanzapin okozza (Allison és mtsai 1999; Hagg és mtsai 1998; Wu és mtsai 2006; Lieberman és mtsai 2005). Az átlagos súlygyarapodás 10 hetes kezelés esetén a klozapinnál 3,99 kg, az olanzapinnál pedig 3,51 kg (Allison és mtsai 1999).

Az AAPD-k által okozott testsúlynövekedés a kezelés első hónapjaiban kezdődik, a hízás üteme azonban antipszichotikumonként változik. Krónikus klozapin kezelés esetén a testsúly

folyamatosan nő, a riszperidon nem okoz akut testsúlygyarapodást, azonban a későbbiekben fokozatosan növeli azt plató fázis elérése nélkül (Reuvers 2005). Olanzapin kezelés, a terápia elkezdésének pillanatától növeli a testsúlyt, de 39. hét körül elér egy plató fázist (+6kg), mely után már nem fokozódik tovább a testsúly (Kinon és mtsai 2001) (1. ábra).



**1. ábra: Olanzapin által okozott testsúlynyövekedés üteme.**(Kinon és mtsai 2001)

A testsúlynyövekedés túlnyomórészt a megnövekedett étváagnak köszönhető, habár egyéb metabolikus zavarok is jelen vannak (Isaac és mtsai 2005).

#### 4.1.1.1 Testsúlynyövekedés patomechanizmusa

Az atípusos antipszichotikumok számos központi idegrendszeri receptorhoz kapcsolódnak, melyeknek szerepe lehet a testsúly szabályozásában (Panariello és mtsai 2010).

Az atípusos antipszichotikumok testsúlynyövelő hatásának mechanizmusa nem teljesen ismert, azonban feltételezések szerint az antipszichotikumok eltérő testsúlyt fokozó mellékhatása az eltérő receptor kötődési erősséggel állhat kapcsolatban. A második generációs antipszichotikumok számos szerotoninerger, dopaminerg, kolinerg, hisztaminerg receptor működését befolyásolják. A testsúlyt fokozó mellékhatásért több receptor is felelőssé tehető,

mint szerotonin 2c receptor (5-HT<sub>2c</sub>R), szerotonin 3 receptor (5-HT<sub>3</sub>R), alfa adrenerg 2 receptor ( $\alpha_2$ R), hisztamin 1 receptor (H<sub>1</sub>R) és béta adrenerg 3 receptor ( $\beta_3$ R) (Nasrallah 2008).

#### 4.1.1.1.1 Szerotonin receptor

A szerotonin-, vagy 5-hidroxi-triptamin (5-HT-) receptorok G-proteinhez kapcsolt receptorok, melyek a központi és a perifériás idegrendszerben található ligand vezérelt ioncsatornák. A szerotonin receptorokat, a természetes ligandjuknak minősülő, szerotonin neurotranszmitter aktivál, és mind gátló mind serkentő neurotranszmissziót is közvetítenek. A szerotonin rendszer meglehetősen összetett. A test különböző részeiben elhelyezkedő és különböző válaszreakciókért felelős 7 szerotonin receptor családot különböztetünk meg. A táplálék felvétel szabályozásában a szerotonin rendszernek hosszú ideje fontos szerepet tulajdonítanak. Ennek következtében nem meglepő, hogy a második generációs antipszichotikumok, melyek többek között a szerotonin receptorhoz való kötődésükben különböznek a hagyományos antipszichotikumoktól, metabolikus mellékhatásának patomechanizmus kutatásában e receptorok szerepe elsőként merült fel. Rágcsálóknál a szerotonin jóllakottság szignált eredményez, csökkenti a táplálék felvételt (Blundell és mtsai 1975), azonban a különböző szerotonin receptorok nem viselkednek azonos módon. Az 5-HT<sub>1A</sub> agonisták fokozzák a táplálék felvételt (Dourish és mtsai 1985), míg az 5-HT<sub>2C</sub> agonisták csökkentik (Vickers és mtsai 2000), és az 5-HT<sub>2C</sub> antagonisták növelik (Bonhaus és mtsai 1997) és egyben gyengítik az 5-HT<sub>2C</sub> agonisták étvágycsökkentő hatását (Hayashi és mtsai 2005).

A fiziológiai tulajdonságaik következtében az 5-HT<sub>2C</sub> és az 5-HT<sub>1A</sub> azok a szerotonin receptorok, melyek valószínűleg szerepet játszanak az antipszichotikumok testsúlyfokozó mellékhatásában. A legtöbbet vizsgált az 5-HT<sub>2C</sub> szerotonin receptor. A várakozásokkal ellentétben azonban az AAPD-k 5-HT<sub>2C</sub> kötődés erősség és testsúlyt fokozó hatásuk között nem találtak direkt korrelációt. Erre bizonyíték az 5-HT<sub>2C</sub> antagonistá ziprazidon, melynek nincs klinikailag bizonyított testsúlynövelő hatása (Panariello és mtsai 2010). További vizsgálatok során merült fel az 5-HT<sub>2C</sub> receptor és a zsírsejtekből felszabaduló, testsúlyt szabályozó hormon, a leptin kapcsolata. Hay-Schmidt és munkatársai kimutatták, hogy az 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonisták jelentős mértékben csökkentik a leptin táplálék felvételt redukáló hatását (Hay-Schmidt és mtsai 2001)

Jin és munkatársai foglalták össze 1999-2007 között publikált AAPD-leptin összefüggést vizsgáló tudományos közleményeket. Arra következtetésre jutottak, hogy bár a leptin szint

kétségtelenül emelkedik AAPD kezelés hatására, ez az emelkedés az AAPD-k által okozott testsúlynövekedésnek és nem az antipszichotikumok közvetlen leptinre gyakorolt hatásának köszönhető (Jin és mtsai 2008).

#### 4.1.1.1.2 *Hisztamin-1 receptor*

Hisztaminerg neuronok kizárólag a tuberomammillárisz magban a hipotalamuszban található, de poszt-szinaptikus hisztamin-1 (H1) receptoraikon keresztül hatással vannak az agy egész területének energiaháztartására. Az antipszichotikumok antihisztamin receptor aktivitásának vizsgálata során nyert eredmények arra utalnak, hogy a hisztamin részt vesz az ébrenlét, lokomotoros aktivitás, kardiovaszkuláris kontroll, folyadék bevitel, táplálék bevitel, valamint a memória kialakulásának szabályozásában (Matsui-Sakata és mtsai 2005).

Számos kutató megfigyelte, hogy az AAPD-k H1 receptorhoz történő kötődési erőssége szoros korrelációt mutat az indukált testsúlynövekedéssel. *In vitro* vizsgálati eredmények szerint a H1 receptor antagonisták fokozzák a táplálék felvételt, és a H1 receptor knock out egér pedig fokozott hajlamot mutat az elhízásra. H1 receptor hiány esetén a leptin táplálék felvételt szabályozó hatása is jelentősen csökkent. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a hipotalamikus hisztamin a leptin működését szabályozó neurotranszmitter (Panariello és mtsai 2010).

Sangwon és munkatársainak egéren nyert eredményei mutatják, hogy AAPD-k étvágyfokozó hatása a hipotalamikus hisztamin 1 receptor gátlásán keresztül az AMPK aktiválása révén valósul meg. Kimutatták, hogy klozapin és olanzapin kezelés hatására a foszfo-AMPK szintje jelentősen nő a hipotalamuszban. Ez az emelkedett centrális AMPK foszforiláció már 5 perces olanzapin, illetve klozapin kezelés után jelentkezik (Sangwon és mtsai 2006). A periférián (izomszövet) az AMPK aktivitás együtt jár a csökkent lipid képződéssel, ugyanis az AMPK foszforilálja az acetil-koenzim A karboxilázt (ACC), mely gátolja a malonil koenzim A termelődését. A malonil-CoA a szubsztrátja a zsírsav szintézisnek, így az ACC gátlás csökkenti a zsírsavak és lipidek képződését (Hardie 2007). Azonban a hipotalamuszban az AMPK hatása fordítottja a perifériásnak (Hardie és mtsai 2006).

A H1 receptor antagonizmus testsúlynövelő hatását nem csak a fent említett neurobiológiai folyamatok okozzák, hanem a jelentős mértékű nyugtató hatása is, melynek következménye a csökkent mobilitás.

#### 4.1.1.1.3 *Étvágyszabályozó hormonok*

A hipotalamusz a táplálék felvétel fő szabályozó szerve, amely a külső ingereket többek között számos hormon változásán keresztül érzékeli. Ezek a hormonok: leptin, grelin, peptid YY (PYY), orexin, kolecisztokinin (CCK), és glucagon-like peptid-1 (GLP-1) mindegyike befolyásolja a hipotalamikus választ, ezért is nevezi őket a tudomány étvágyszabályozó hormonoknak. Az alábbiakban, nagyvonalakban ismertetem a hormonok termelődési helyét és fiziológias hatásait a táplálék felvételre.

A CCK a vékonybélben (duodenum) termelődik, a zsír és fehérje emésztését serkenti, és mint neurotranszmitter CCK receptorokon keresztül jóllakottság érzést indukál. A gyomor és hasnyálmirigy által termelt grelin éhség érzetet keltő 28 aminosavból álló peptid, melynek szintje étkezés előtt fokozódik, étkezést követően pedig csökken (Inui és mtsai 2004). A PYY étkezést követően termelődik a vastagbélben, és étvágycsökkentő hatással bír (Batterham és mtsai 2003). A zsírsejtek által termelt leptin 16 kDa-os fehérjehormon, szabályozza az energia bevitt és felhasználást, így az étvágyat és a metabolizmust. A hipotalamuszban található receptorainak aktiválásával csökkenti az étvágyat (Brennan és mtsai 2006). Az orexin, a hipotalamuszban termelődik, fokozza a táplálék felvételt és az energia felhasználást (Dube és mtsai 2000). A bélnyálkahártya endokrin L sejtjei által, étkezést követően szintetizált GLP-1 glukóz függő módon fokozza az inzulin szekréciót és csökkenti a glukagon termelődést. Emellett mind a perifériás, mind a centrális GLP-1 receptorokon keresztül csökkenti az étvágyat, ennek révén a kalória bevitt (Ebdrup és mtsai 2012). Számos klinikai tanulmány bizonyítja, hogy II-es típusú diabéteszes betegekben GLP-1 receptor agonisták csökkentik a testsúlyt (Vilsbøll és mtsai 2012).

Az étvágyat szabályozó hormonok és az atípusos antipszichotikumok kapcsolatát számos kutató vizsgálta. Weston-Green és munkatársainak eredményei szerint az olanzapin által okozott testsúlynövekedés a hiperfágiának, a fokozott táplálék felszívódásnak, a csökkent motoros aktivitásnak és a károsodott jóllakottság szignálnak az eredménye. Kísérleteikben azt találták, hogy az olanzapin kezelés hatására nőtt a szérum grelin és CCK szintje, azonban a peptid YY szintje nem változott (Weston-Green és mtsai 2011). Smith és munkatársai akut klopazin és quetiapin kezelés hatására jelentős mértékű glukagon szint emelkedést, és GLP-1 szint csökkenést figyeltek meg (Smith és mtsai 2009). Ennek jelentőségét csökkenti, hogy van der Zwaal és munkatársainak eredményei szerint akut olanzapin kezelés fokozta a grelin szintet, míg nem befolyásolta a leptin, inzulin, CCK, GLP-1, PYY hormon szinteket (van der Zwaal és mtsai 2012).

Palik és munkatársainak klinikai eredményei szerint az atípusos antipszichotikus kezelés hatására fokozódott a testtömeg index értéke (BMI), romlott az inzulin érzékenység, nőtt a szérum grelin és orexin szint (Palik és mtsai 2005). Ezzel szemben Vidarsdottir és munkatársai által publikált humán klinikai vizsgálat eredményei azt mutatják, hogy az olanzapin kezelésnek nincs jelentős hatása a bélben termelődő hormonok plazma szintjére egészséges önkéntesekben (Vidarsdottir és mtsai 2010). Az elletmondásokat fokozza, hogy Basoglu és munkatársainak szintén humán klinikai vizsgálatból származó adatai szerint a leptin szint nőtt, a grelin és orexin szint csökkent és a CCK szint pedig nem változott olanzapin kezelés hatására (Basoglu és mtsai 2010).

#### **4.1.2 AAPD által kiváltott diszlipidémia**

Mind a típusos, mind az atípusos antipszichotikus terápia diszlipidémiát okoz, azaz növeli a triglicerid és össz-koleszterin, csökkenti a HDL szintet a szérumban. Ruzanna és munkatársai krónikus antipszichotikus kezelésben részesült skizofrén betegek 66%-nál figyeltek meg diszlipidémiát. A diszlipidémia előfordulásának gyakorisága azonos volt a típusos és az atípusos antipszichotikumok esetében (Ruzanna és mtsai 2012).

Az antipszichotikumok által okozott diszlipidémia időben megelőzheti a testsúlynövekedést. A diszlipidémia jelentőségét annak aterogén jellege adja, mely nagymértékben hozzá járul az antipszichotikumokkal kezelt betegek fokozott kardiovaszkuláris betegség kockázatához (de Leon és mtsai 2007).

##### **4.1.2.1 Diszlipidémia kialakulásának patomechanizmusa**

Számos kutató, a diszlipidémia patomechanizmusaként a testsúlynövekedést nevezi meg. Az abdominális zsírhalmozódás fokozza a szabad zsírsav felszabadulást, gyorsítja a triglicerid szintézist és a VLDL felszabadulást (Saari és mtsai 2004).

A későbbiekben azonban Meyer és munkatársai nem találtak direkt összefüggést az emelkedett szérum triglicerid, szérum koleszterin szint és a testsúlynövekedés között. Ennek értelmében a diszlipidémia a testsúlyváltozástól függetlenül is kialakulhat antipszichotikum kezelés hatására (Meyer 2005).

### 4.1.3 AAPD által okozott inzulin rezisztencia

Nemrégiben befejeződött klinikai vizsgálat alapján, ahol 15 767 nem diabéteszes skizofrén betegeken vizsgálták a krónikus AAPD kezelés hatásait, megállapították, hogy az újonnan diagnosztizált diabétesznek körülbelül egyharmadát okozta az olanzapin kezelés (Lambert és mtsai 2006). Három hónapos AAPD kezelés (klozapin, olanzapin) ugyancsak jelentősen fokozta az újonnan kialakuló kóros glukóz anyagcserét (OGTT), valamint a betegek 4%-nál manifeszt diabéteszt okozott (van Winkel és mtsai 2008).

Az AAPD bevezetése óta évi 0,7%-kal gyorsabban növekszik a II-es típusú diabétesz mellitusban szenvedők száma skizofrén betegekben az átlag populációhoz képest (Basu és mtsai 2006).

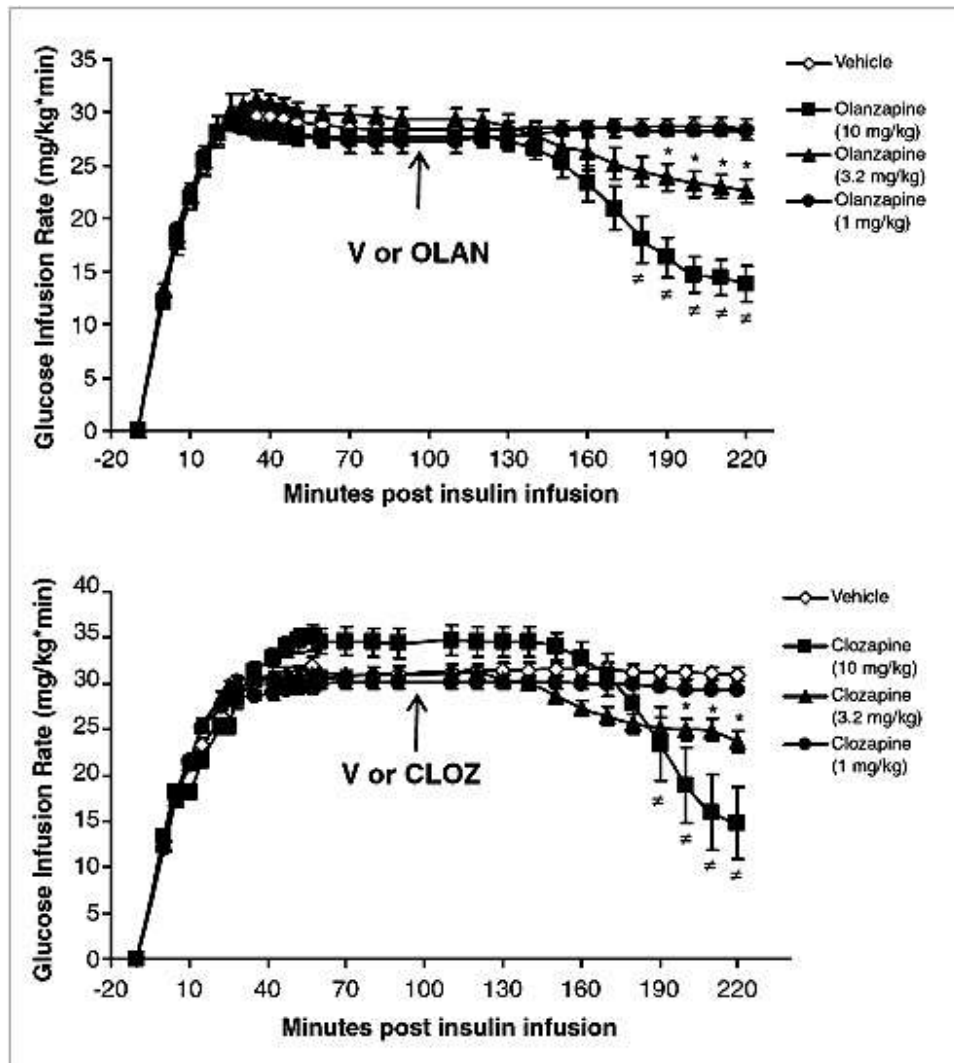
#### 4.1.3.1 Inzulin rezisztencia kialakulásának patomechanizmusa

Houseknecht és munkatársai patkány kísérletekben bizonyították, hogy az atípusos antipszichotikumok a testsúlyváltozástól független akut inzulin rezisztenciát okoznak. Egészséges patkányokon hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp (HEGC) módszerrel bizonyították, hogy egyszeri olanzapin illetve klozapin kezelés 40-60 percen belül jelentős inzulin rezisztenciát okoz (2. ábra) (Houseknecht és mtsai 2007). Houseknecht és munkatársai az általuk megfigyelt akut inzulin rezisztenciát a csökkent hepatikus inzulin érzékenységnek tulajdonítják, mely egybevág Ader és munkatársainak korábbi, kutyákon végzett megfigyeléseinek eredményeivel (Ader és mtsai 2005). Véleményük szerint egyszeri AAPD kezelés után elsőként a hepatikus inzulin rezisztencia fejlődik ki, majd az ismételt kezelések okozzák a testsúlynövekedést és a diszlipidémiát (Houseknecht és mtsai 2007).

Számos AAPD-vel kezelt betegnél tapasztaltak a klinikusok hirtelen kialakuló hiperglikémiát, melyet néhány esetben ketoacidózis is kísért, a testsúly növekedése nélkül (Henderson és mtsai 2007). Az állatkísérletekhez hasonlóan az olanzapin emberben is gyorsan inzulin rezisztenciát okoz. Sacher és munkatársainak clamp vizsgálatai szerint 10 napos (akut) AAPD kezelés egészséges önkéntesekben jelentősen csökkentette (20%) a teljes testre számolt inzulin érzékenységet, és jelentősen növelte a plazma inzulin szintjét (20-25%). Az antipszichotikum kezelésben részesült csoport BMI-je szignifikánsan nőtt a kontroll csoporthoz képest, mely adatok szoros korrelációt mutatnak a BMI és inzulin rezisztencia között (Sacher és mtsai 2008).



A második generációs antipszichotikumok akut metabolikus mellékhatásának egyik magyarázata, Dwyer és munkatársai szerint, hogy az AAPD-k direkt módon károsítják a cukor transzportot vagy az inzulin jelátvitelt, melynek következtében a vércukor szint emelkedik, az inzulintermelés fokozódik (Dwyer és mtsai 2003). Mások az antipszichotikumok által okozott glukóz transzport gátlást csak magas, esetleg citotoxikus dózisokban tartják lehetségesnek (Houseknecht és mtsai 2007; Robinson és mtsai 2006).



**2. ábra: Egyszeri olanzapin és klozapin kezelés akut hatása az inzulin érzékenységre patkányban.**(Houseknecht és mtsai 2007) Hiperinzulinémiás euglikémiás clamp steady state fázisában beadott olanzapin illetve klozapin egy órán belül csökkenti a glukóz felhasználást.

Természetesen az antipszichotikumok által hosszabb távon okozott elhízás ugyancsak hozzájárul az inzulin rezisztencia progressiójához.

#### 4.1.3.1.1 TGF $\beta$ - SMAD3

A transzformáló növekedési faktor béta (TGF $\beta$ ) egy citokin, mely többek között szabályozza a sejtek szaporodását, érését és apoptózisát. Számos megbetegedés, mint daganatos betegségek, diabétesz, Marfan szindróma, Parkinson kór patomechanizmusában fontos szereppel bír. A TGF $\beta$  receptorához történő kötődése következtében a receptor aktiválódik és foszforilálja az általa szabályozott SMAD molekulacsaládot (R-SMAD). Az R-SMAD molekulacsaláddhoz tartozó SMAD3 apoptózist idéz elő. A TGF $\beta$  jelátvitelt aktiváló faktorok (proteázok, integrinek, pH, ROS) kóros működése, mennyisége a TGF $\beta$  jelátvitel mértékének kontroll elvesztéséhez vezet, mely súlyos szövödményeket, mint gyulladást, autoimmun betegségeket, fibrózist, daganatot idéz elő (Blobe és mtsai 2000).

Az irodalmi adatok szerint szoros összefüggés található az elhízás, az inzulin rezisztencia, a diabétesz és a TGF $\beta$  jelátvitel, valamint a SMAD3 között. Túlsúlyos és II-es típusú cukorbetegségben szenvedőkben a TGF $\beta$  szérumszintje magasabb, emellett II-es típusú diabétesz kialakulásának kockázata magasabb azoknál az egyébként egészséges embereknél, akiknek a szérumszintje emelkedett (Azar és mtsai 2000).

Tan és munkatársai *in vivo* kísérleteik során mutatták ki, hogy SMAD3 genetikai deléciójakor a vizsgált egerek rezisztenssé váltak a magas zsírtartalmú diétával provokált elhízás és inzulin rezisztenciával szemben (Tan és mtsai 2011).

Cohen és munkatársainak eredménye, hogy az atípusos antipszichotikumok aktiválják a SMAD3-at, mégpedig eddig ismeretlen útvonalon. Tehát sem a TGF $\beta$  receptor komplex, sem neurotransmitter receptorok, melyek valószínűsíthetően lényeges szerepet töltenek be az AAPD terápiás hatásában, nem játszanak közre ezen SMAD3 aktivációban. Az a megfigyelés, miszerint azok az antipszichotikumok okoznak súlyos metabolikus zavarokat, amelyek aktiválják a SMAD3-t, arra enged következtetni, hogy a TGF $\beta$  útvonal jelentős szerepet játszik az AAPD kezelés következtében kialakuló metabolikus elváltozásokban (Cohen és mtsai 2012).

#### 4.1.4 Az atípusos antipszichotikumok mellékhatásainak kezelése

A mellékhatások kezelésének fontosságára hívta fel a figyelmet az Amerikai Pszichiátriai, Endokrinológiai és Diabétesz Társaságok közös konszenzus konferenciája 2004-ben (American Diabetes Association 2004).

Az atípusos antipszichotikumok mellékhatásainak kezelésére alkalmas terápia limitált. Az irodalomban található legtöbb klinikai vizsgálat az AAPD kezelés következtében kialakuló elhízás és az inzulin rezisztencia kivédésére fókuszál, a diszlipidémiának sztatinok és fibrátok a megfelelő gyógyszerelése.

Közismert, hogy a testsúlycsökkentés alapvetően hatékony módszere a tápanyag bevitel csökkentése és a fokozott mozgás. Az elhízás leggyakrabban ugyanis a mozgásszegény életmód és a túlzott tápanyag bevitel eredménye. A gyógyszeres kezelés általában 30-27 feletti BMI értéknél indokolt. A terápia célja ezekben az esetekben a kiindulási vagy alap testsúly 5-10%-ával történő fogyás 3-6 hónap alatt, ha ez nem történik meg, akkor beszélünk az alkalmazott terápia sikertelenségéről és befejezéséről. Az életmód változtatáson alapuló testsúlycsökkentő terápiák hatékonysága azonban a kevésbé kooperáló pszichiátriai betegek esetében limitált.

Az AAPD-k testsúlynövelő hatásának kivédésére számos étvágycsökkentővel és antidiabetikummal (Amantadin, Reboxetin, Sibutramin, Betahistin, Rimonabant, Metformin, Tiazolidindion (TZD) származékok, GLP-1 analógok) végeztek klinikai vizsgálatot. A kannabinoid receptor 1 (CB1) blokkoló rimonabant hatékonyságát az elhízás kezelésére kiterjedt randomizált klinikai vizsgálatok sokasága bizonyította. Testsúlycsökkentő hatása jelentősen nagyobb, mint a csökkentett kalória tartalmú étrendé. Ezen kívül számos kardiometabolikus paraméter is javult, mint a HDL szint fokozódott, a koleszterin és triglicerid szint csökkent, fokozódott az inzulin érzékenység, csökkent az inzulin szint, és diabéteszes betegekben csökkent a glikált hemoglobin aránya a rimonabant kezelés hatására (Scheen és mtsai 2006). Azonban súlyos pszichiátriai mellékhatásai (depresszió, feszültség, ingerlékenység, és öngyilkosságra való hajlam) következtében a forgalomból kivonták. A Sibutramint szintén visszavonták már a piacról, a TZD származékok pedig hatástalannak bizonyultak. A legjobb, bár az irodalmi közlésekben ellentmondásos hatást a metformin eredményezte.

A metformin a biguanidok csoportjába tartozó antidiabetikum, mely csökkenti a máj glukóz termelését (glükoneogenezist), csökkenti a vékonybélben a cukor felszívódását és fokozza a perifériás szövetek cukor felvételét, ezáltal javítja az inzulin érzékenységet.

Wu és munkatársai a metformin preventív hatásáról számoltak be. A gyógyszer naiv olanzapin kezelésben részesülő skizofrén betegen történő klinikai vizsgálat során, a metformin jelentős testsúlynövekedés gátlást eredményezett, bár teljesen nem szüntette meg (Wu és mtsai 2008). Klein és munkatársainak adatai szerint a metformin ugyancsak

csökkentette a testsúlynövekedést és az inzulin rezisztenciát második generációs antipszichotikummal kezelt gyerekekben és felnőttekben (Klein és mtsai 2006).

Ezeknek a megfigyeléseknek ellentmond Baptista és munkatársainak tanulmánya, akik kettős vak, placebo kontrollált klinikai vizsgálat során nem tapasztalták a metformin védőhatását sem az olanzapin által okozott testsúlynövekedés, sem az inzulin rezisztenciával szemben (Baptista és mtsai 2006).

A metforminra vonatkozó ellentmondó adatok fő oka lehet, hogy Wu és munkatársai gyógyszer naiv, első epizódos betegeken végezték vizsgálataikat, míg Baptista és munkatársai krónikusan kezelt betegeken nyerték adataikat.

Mindezek alapján elmondható, hogy az atípusos antipszichotikumok által okozott metabolikus mellékhatások kezelése nem megoldott (Maayan és mtsai 2010), a mellékhatások kontrollálásában fontos szerepe lehet egy új típusú inzulinérzékenyítőnek.

#### 4.2 AZ AAPD ÉS A KRÓNIKUS METABOLIKUS STRESSZ TALAJÁN KIALAKULÓ INZULIN REZISZTENCIA KAPCSOLATA

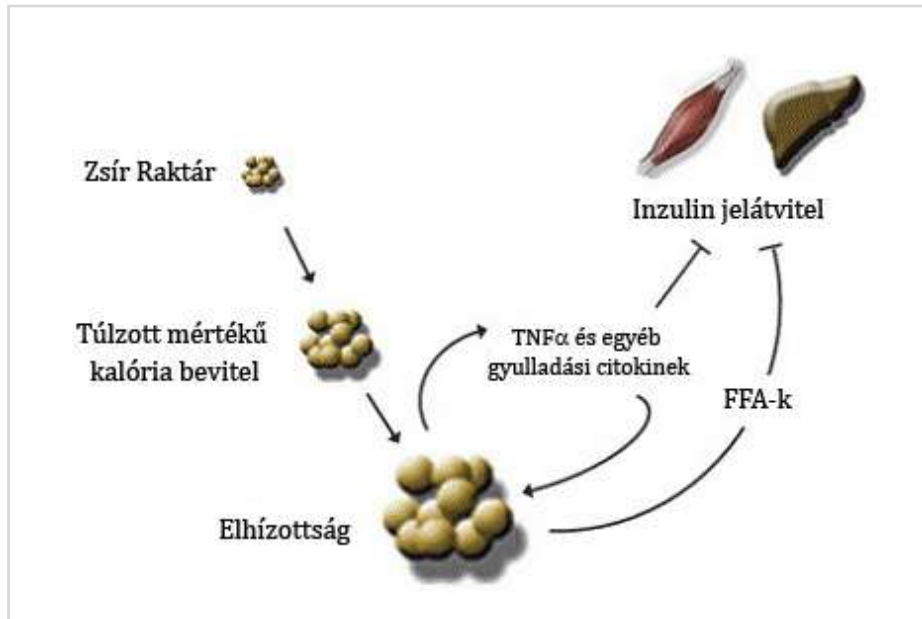
Az AAPD által okozott metabolikus mellékhatások kiváltásában számos specifikus, csak ezekre a gyógyszerekre jellemző folyamatokat írtak le. Azonban, amikor az elhízás, a diszlipidémia krónikussá válik, akkor az AAPD által kiváltott metabolikus zavar inzulin rezisztenciát okoz.

A krónikus metabolikus stressz talaján számos folyamat együttesen eredményezi a cukor anyagcsere zavarát.

##### 4.2.1 Gyulladásos mediátorok

Az utóbbi évtizedben egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy az elhízás részben krónikus gyulladáson keresztül eredményez inzulin rezisztenciát. Hotamisligil és munkatársainak (Hotamisligil és mtsai 1993), valamint Karasik és munkatársainak (Feinstein és mtsai 1993) eredményei mutatták először, hogy a tumor nekrozis faktor alfa (TNF $\alpha$ ) inzulin rezisztenciát képes okozni. Forradalmian új megfigyelés volt, hogy egy, a zsírszövet/sejt által termelt

mediátornak, amely túlermelődik elhízás esetén, lokális és valószínűsíthetően szisztémás hatása van a metabolizmusra (3. ábra).



**3. ábra: Sematikus ábra az elhízás, a gyulladási citokinek és az inzulin rezisztencia kapcsolatáról** (Summers 2006)

Az elképzelés miszerint a zsírszövetben citokinek is termelődnek gyorsan elfogadottá vált. Több szabályozó molekuláról, mint leptin, interleukin 6 (IL-6), rezisztin, monocita kemoattraktáns protein 1 (MCP-1), plazminogén aktivátor inhibitor 1 (PAI-1), angiotenzin, viszfatin, retinolkötő fehérje 4, szérum amiloid A (SAA), derült ki, hogy szintén a zsírsejtek vagy a zsírszövetben lévő makrofágok termelik (Shoelson és mtsai 2006). Az adiponektint is a zsírszövet termeli, azonban szintje a testsúlynövekedésével ellentétesen változik, azaz a zsírosodás mértékének fokozódásával expressziója csökken. Míg a leptint és az adiponektint kizárólag a zsírsejtek termelik (adipokinek) addig a TNF $\alpha$ , IL-6, MCP-1, viszfatin és PAI-1 expressziója a zsírsejtekben, zsírszövetekben lévő aktív makrofágokban és egyéb sejtekben is magas. A gyulladási citokinek (TNF $\alpha$ , IL-6, rezisztin) kétségtelenül közreműködnek az elhízáshoz köthető szubakut gyulladás kialakulásában, a kemokinek (MCP-1) pedig alapvető szerepet játszanak a makrofágok zsírszövetbe történő migrációjában. Ezek a citokinek és kemokinek olyan sejten belüli útvonalakat aktiválnak, melyeknek következtében inzulin rezisztencia és II-es típusú diabétesz alakul ki. Az elméletek, amelyek az elhízás következtében kialakuló c-Jun N-terminál kináz (JNK) és nukleáris faktor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) aktivációt magyarázzák, feloszthatók receptorokon keresztül végbemenő és receptoroktól független mechanizmusokra. A TNF $\alpha$  és az IL-1 $\beta$  gyulladási citokinek receptoraikon

keresztül, a klasszikus útvonalon aktiválják a JNK és a  $\kappa$ B-t gátló kináz (IKK)/NF- $\kappa$ B kaszkádokat. Azonban ezen útvonalak, mintázat (test idegen felszíni fehérjéket) felismerő receptorokon, mint toll-like receptorokon (TLR) és előrehaladott glikált végtermék receptorokon (RAGE) keresztül is aktiválódnak (Akira és mtsai 2006). Az a tény, hogy a TLR-hoz a lipopoliszacharidon (LPS) kívül, más, bakteriális lipopeptidek is kötődnek, vezetett az elképzeléshez, hogy túlsúlyos állapotban endogén lipidek vagy lipid konjugátumok aktiválhatnak egy vagy több TLR-t. Lee és munkatársainak adatai támasztották alá ezt a hipotézist. Kimutatták, hogy a telített zsírsavak kötődnek és aktiválják a TLR4-et (Lee és mtsai 2001). Hasonlóan a RAGE is számos liganddal rendelkezik, beleértve az endogén glikált végtermékeket (AGE) és a különböző mikrobiológiai ágenseket (Shoelson és mtsai 2006). Nagy mennyiségben jelenlévő AGE (lassan cserélődő fehérjék és glukóz által alkotott komplex) és az elhúzódó hiperglikémia NF- $\kappa$ B aktivációhoz vezet. A ROS, és az ER stressz is aktiválja a JNK-t és NF- $\kappa$ B-t. Fokozott ROS termelés következtében a TNF $\alpha$ , IL-6 és MCP-1 termelődése fokozódik, és az adiponektin szintje csökken. Ezt támasztja alá a megfigyelés, miszerint az N-acetil cisztein csökkenti a ROS szintet és fokozza az inzulin érzékenységet hiperglikémiás modellen (Lin és mtsai 2005).

Mindemellett a telített zsírok sejten belüli felhalmozódása fokozza a ceramid szintézisét, és számos protein kináz C (PKC) (PKC- $\beta$ II, PKC- $\delta$ ) aktivitását, melyek szintén aktiválják a JNK-IKK tengelyt a májban és/vagy vázizomzatban (Shoelson és mtsai 2006). Ez a foszforilációs változás alapvető és minden fajta inzulin rezisztenciára igaz, legyen az kémiai vagy genetikai úton kiváltott, *in vitro*, *in vivo* modellen vagy a humán betegségben (Hotamisligil 2006).

A JNK és az IKK elsősorban az inzulin receptor szubsztrát 1 (IRS-1) szerin foszforilációján keresztül gátolja az inzulin jelátvitelt (Hotamisligil 2006). A JNK és IKK patogenetikai szerepét igazolja, hogy az útvonalak genetikai gátlásával az elhízás következtében kialakult inzulin rezisztencia teljes mértékben kivédhető (Hirosumi és mtsai 2002; Cai és mtsai 2005; Arkan és mtsai 2005).

A felsorolt gyulladást előidéző mediátorok közül mindegyik szerepe lényeges az inzulin rezisztencia patogenezisében, de nincs elég információ annak meghatározására, hogy melyik hatása domináns. Továbbá a termelődött gyulladással citokineknek köszönhetően az aktiválódott gyulladással kaszkád öngerjesztő folyamat.

Az inzulin rezisztens zsírsejtet/szövetet károsító egy időben fennálló tényezők, mint krónikus gyulladás, hipoxia, oxidatív stressz és a hipertrófia következtében kialakult mechanikai

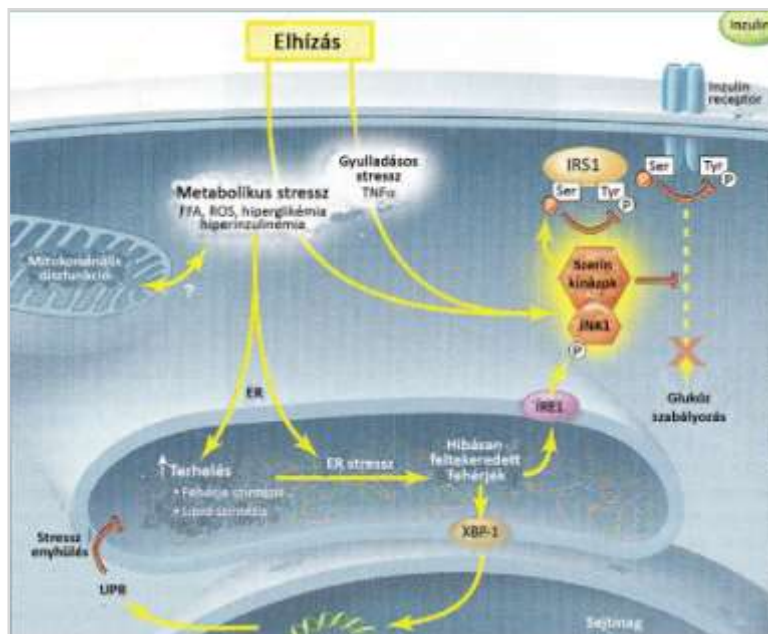
stressz kumulatív hatása különböző sejtszervecskék, különös tekintettel a mitokondrium és az endoplazmás retikulum diszfunkcióját eredményezik.

#### 4.2.2 Endoplazmás Retikulum stressz

Az endoplazmás retikulum (ER) egy membrán hálózat, amely integrál számos metabolikus jelet és útvonalat, szabályozza elsősorban a fehérje és a lipid anyagcserét. Az ER az elsődleges helye a szekréciós fehérje szintézisnek, valamint a Golgi apparátussal együtt a szekréciós pályát alkotja. A fehérje szintézis során az endoplazmás retikulum stresszfehérjék, mint GRP78, kalnexin, kalretikulin részt vesznek a fehérje foldingban, segítik a megfelelő fehérje hajtogatást, és megelőzik a fel nem tekeredett, valamint a rosszul feltekeredett fehérjék összecsapódását. A fehérje szintézis mellett egyre több adat utal arra, hogy az endoplazmás retikulum a lipid anyagcsere szabályozásában is kulcsszerepet játszik. Ennek része a lipid droplet képződése is (Martin és Parton 2005; Wolins és mtsai 2006). A zsírcseppek ER eredetét azok felszínén található endoplazmás retikulum specifikus stresszfehérje (GRP78) kimutatásával számos kutató bizonyította (Brasaemle és mtsai 2004; Prattes és mtsai 2000).

Figyelembe véve, hogy az endoplazmás retikulum alapvető szerepet játszik az összetett metabolikus szignálok koordinálásában továbbá a sejt homeosztázis fenntartásában, nem meglepő, hogy a megfelelő ER funkció fenntartása kiemelkedő fontossággal bír minden sejt számára. A sejtet érő stresszhatások károsítják az ER funkciót, így a fehérjék nem képesek felvenni a megfelelő háromdimenziós térszerkezetüket és felhalmozódnak az ER lumenben. Ez az intracelluláris aggregáció számos hatást eredményezhet, amelyek betegségek (iszkémia, neurodegeneratív betegségek, és diabétesz) kialakulásában oki szerepet játszanak (Kaufman 2002). Az ER stressz az „unfolded protein response”-nak (UPR) nevezett jelátviteli választ indukál, ami részint kompenzációs, alkalmazkodási mechanizmus, részint azonban apoptózist is eredményezhet. Az UPR aktiválódásához vezető sejtet érő stresszhatások közé tartoznak az energia háztartási zavarokon túl a fehérje szintézis zavarai, a mutálódott vagy rosszul feltekeredett fehérjék jelenléte, akkumulációja, a glikoprotein képződés gátlása, az ER kalcium egyensúlyának felbomlása. Az UPR három ER transzmembrán receptor aktiválódásán keresztül valósul meg: a pankreátikus ER kináz (PKR)-szerű ER kináz (PERK), az aktiváló transzkripciós faktor 6 (ATF6), az inozitol-requiring enzim 1 (IRE1). Az aktiválódás jelenlegi magyarázata szerint, nyugalmi állapotban mind a három ER stressz

receptorhoz ER chaperon (GRP78) kötődik. Azonban stressz állapotban a GRP78 a szubsztrát fehérjéinek felszaporodása következtében leválik mind a három receptorról, amely az UPR-hez vezet. Az UPR elsődleges célja a fel nem tekeredett fehérje felhalmozódásának csökkentése és a normális ER funkció helyreállítása. Az ER stressz megszüntetésének két fő mechanizmusa a fehérje szintézis csökkentése és az ER chaperonok termelésének fokozása. ER stressz programozott sejthalálhoz is vezethet (Schroder és mtsai 2005). Különböző metabolikus okokból ER stressz jöhet létre májsejtekben és pankreasz  $\beta$  sejtekben. Az ER stressz egyrészt a már korábban leírt módon a JNK aktiválásán keresztül hozzá járul az inzulin rezisztenciához (4. ábra), másrészt az inzulin termelés csökkenését, vagy a  $\beta$  sejtek apoptózisát eredményezheti (Eizirik és mtsai 2008). A korai  $\beta$  sejt károsodást támasztja alá, hogy a II-es típusú diabétesz minden esetében, még a korai stádiumokban is, mint prediabétesz vagy károsodott cukor tolerancia (IGT), a hasnyálmirigy  $\beta$  sejtjeinek diszfunkciója már megfigyelhető (Matsuda és mtsai 2008).



**4. ábra: Az elhízás, a metabolikus stressz inzulin rezisztenciát okozó mechanizmusa**(Muio és mtsai 2004)

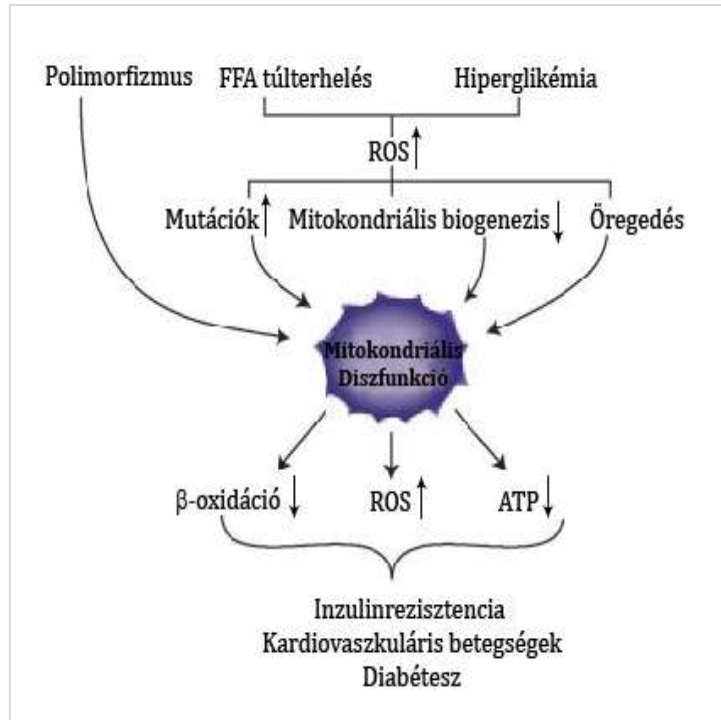
#### 4.2.3 Mitokondriális diszfunkció

A mitokondrium a sejt fő energiatermelő szervecskéje, ezért érintettsége a metabolikus zavarokban szükségszerű. Tekintettel arra, hogy az inzulin rezisztencia szoros összefüggésben van a mitokondriális diszfunkcióval és az oxidatív foszforilációs gének expressziójával, az



öregedés illetve egyéb sejt stressz állapotok következtében létrejövő mitokondriális génmutációk valószínűsíthetően az inzulin rezisztencia és egyéb kardiometabolikus megbetegedések kialakulásában fontos szerepet játszanak (Petersen és mtsai 2003). Feltételezések szerint a mutagén stresszhatásoknak a mitokondriális genom van leginkább kitéve, köszönhető ez annak, hogy fizikailag a mitokondriális gének vannak legközelebb a ROS termelés forrásához és hisztonokkal nem védett (Linnane és mtsai 1989), kizárólag kódolószekvenciákat tartalmaznak (Harper és mtsai 2004).

A metabolikus zavarokhoz kapcsolódó mitokondriális változások elsődleges oki vagy következményes voltáról, erősen megoszlik a szakirodalom véleménye. Jól ismert tény, hogy a mitokondriális diszfunkció a II-es típusú diabétesz és az időskori inzulin rezisztencia szorosan összefüggenek (Stump és mtsai 2003; Petersen és mtsai 2003). A genetikai faktorok, a fokozott oxidatív stressz, a csökkent mitokondriális biogenezis, és az öregedés mind mitokondriális funkciót károsító tényezők, melyek végül inzulin rezisztenciához, illetve számos egyéb megbetegedéshez vezetnek (5. ábra). A túlsúlyos és cukorbetegek vázizomzatára jellemző a csökkent mitokondriális funkció (Patti és mtsai 2003), a jelentősen csökkent komplex I aktivitás (Ritov és mtsai 2010), és a csökkent mitokondrium szám és méret (Mogensen és mtsai 2007). Továbbá cukorbetegek vázizomzatában az oxidatív foszforilációban részt vevő gének expressziója is jelentősen csökkent. Az oxidatív útvonalak enzim aktivitásának csökkenése korrelál az inzulin rezisztencia súlyosságával (Simoneau és mtsai 1997). A mitokondriális nitrogén monoxid szintáz (mtNOS) működése a komplex I-hez kapcsolt. A komplex I csökkent működése vagy inaktivációja eredményezi a mtNOS ROS termelését, ennek következtében a mitokondriális komplex I inaktiváció közreműködik az oxidatív stressz kialakulásában (Parihar és mtsai 2008). A mitokondriális ROS aktiválja a JNK-t és a nuklális faktor  $\kappa$ B-t (NF- $\kappa$ B) (Cassarino és mtsai 2000), mely citokinek a már említett módon inzulin rezisztenciát okoznak.



**5. ábra: Mitokondriális diszfunkció mechanizmusa.** A túlzott táplálék bevitel fokozza a ROS termelést és csökkenti a mitokondriális biogenezist, melyek mitokondriális diszfunkciót eredményeznek. A mitokondriális diszfunkció csökkent  $\beta$  oxidációhoz, következményesen csökkent ATP termeléshez vezet, a ROS termelődése fokozódik, inzulin rezisztenciát, diabéteszt és kardio-vaszkuláris megbetegedéseket eredményezve (Kim és mtsai 2008)

#### 4.2.4 Membrán elváltozások diabéteszben

A sejtmembránok összetett struktúrák, melyek lipidekből, fehérjékből és szénhidrátokból épülnek fel. A fehérjék a különböző lipidosztályokba tartozó lipidek (foszfátidil-kolin, szfingomielin, glikoszfingolipidek, aminofoszfolipidek, foszfátidil-inozitol és foszfátidsav) által alkotott kettős rétegbe ágyazódnak. Jól ismert, hogy a biológiai membránokban szfingolipidekben, glikoszfingolipidekben vagy koleszterolban gazdag mikrodomének (raftok) találhatóak. Az eltérő funkciójú mikrodomének lipid összetételükben, oldékonyságukban is különböznek egymástól (Simons és mtsai 2010). A membránokon található begyűrődések, kaveolák glikoszfingolipidben, szfingomielinben és koleszterolban gazdag speciális lipid raftok. A kaveolin 1 a kaveolák szerkezetét biztosító fehérje. A kaveolin 1 genetikai deléciója esetén a vizsgált egerek rezisztenssé váltak a táppal indukált elhízással szemben, sugalmazva, hogy a kaveolák és a mikrodomének fontos szerepet tölthetnek be a triglicerid (TG) és zsírsav felvételben. Ennek következtében a kaveolák és lipid raftok aktív

központjai az elhízás, diabétesz és egyéb metabolikus betegségek kutatásában (Ortegren és mtsai 2007).

A koleszterol mellett a szfingomielinek (SM) is fontos összetevői a lipid raftoknak. Szintézisét katalizáló enzim a szfingomielin szintáz (SMS), melynek 3 izoformája ismert az SMS1, SMS2 és az SMSr. Az SMS1 a Golgi apparátusban végbe menő SM termelődésért felelős, az SMSr a ceramid háztartást szabályozza az endoplazmás retikulumban (Tafesse és mtsai 2006). Nemrégiben megjelent tanulmány szerint az SMS2 elégtelenség következtében az NFκB aktivitása csökkent (Liu és mtsai 2009). Mitsutake és munkatársai SMS2 knock out egereken vizsgálták a zsírdús táp metabolikus hatásait. Eredményeik arra utalnak, hogy az SMS2 enzim hiánya teljes védelmet nyújt a zsírdús táp által okozott testsúlynövekedéssel szemben, továbbá az éhomi vércukorszint sem emelkedett ezekben az állatokban. Következtetések szerint SMS2 enzim károsításával kivédhető a zsírdús táppal indukált inzulin rezisztencia, utalván az enzim valószínűsíthető szerepére a diabétesz pathomechanizmusában (Mitsutake és mtsai 2011).

A biológiai membránok fizikai állapotát összetétele, a környezet hőmérséklete és külső tényezők határozzák meg. A sejt membrán fizikai állapota befolyásolja a beleágyazott fehérjék működését. A molekulák, melyek képesek instabillá tenni a szfingomielin és koleszterol alkotta szterolban gazdag doméneket mű membránokon (Maula és mtsai 2009; Nagy és mtsai 2007), hatással lehetnek bizonyos membrán fehérjék működésére. Lipofil szerek képesek lehetnek befolyásolni bizonyos membrán fehérjék működését, azok a membránba történő oldal irányú mozgásán keresztül.

Inzulin rezisztenciában és cukorbetegség esetén a membránok merevek, kevésbé folyékonyak. Feltételezések szerint ennek oka a fokozott glikáció, az oxidatív károsodás, és az inzulin elégtelenség (Tong és mtsai 1995). Cazzola és munkatársai túlsúlyos betegek vörösvérsejtjeinek membránját vizsgálták, és a membrán fluiditás csökkenésének okaként a többszörösen telítetlen zsírok és antioxidánsok szintjének jelentős csökkenését állapították meg (Cazzola és mtsai 2004).

#### 4.3 HŐSOKKFEHÉRJÉK

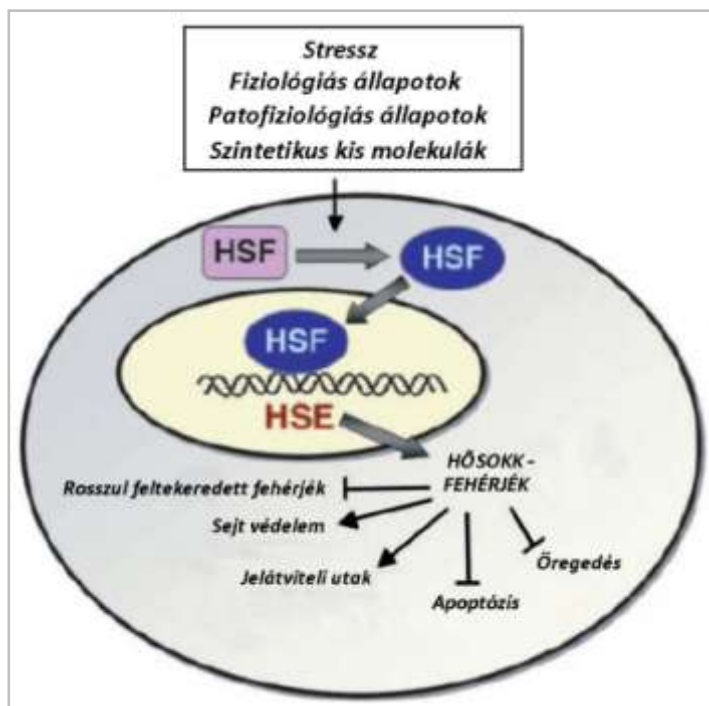
A hősokkfehérjék (HSP) meglehetősen konzervatív polipeptid családok, a baktériumoktól az emberig minden élő organizmusban megtalálhatók. Csoportosításuk, molekulatömegük alapján történik, ennek megfelelően HSP110, HSP90, HSP70, HSP60, HSP10 és kis

molekulatömegű sHSP (LMW HSP,  $\alpha$ -HSP vagy smHSP) családokat különböztetünk meg. Funkciójukat tekintve sejten belüli „dajkái” a többi fehérjének. Fontos szerepet játszanak a fehérje-fehérje kölcsönhatásokban, a fehérjék „hajtogatásában” (folding), érésében, segítenek a megfelelő fehérje konformáció, alak létrehozásában, megakadályozzák a fehérjék nem kívánatos összecsapzódását, aggregációját és részt vesznek fehérjék degradációjában, minőségi kontrolljába (Hartl 1996).

A hőszokkfehérje (HSP) családok nélkülözhetetlenek a fehérjék fiziológiás fenntartásában, stabilizálásában, ennek következtében állandóan megtalálhatók minden élő szervezetben. A stresszmentes állapotokban „monitorozzák” a sejt fehérjéket, a fehérje minőség ellenőrzés fontos részét képezik (Santoro 2000).

A hőszokkfehérjék másik fontos feladata a sejt védelme krónikus és akut stresszhelyzetben. Külső vagy belső stresszhatások következtében, mint fertőzés, gyulladás, fizikai terhelés, toxinok (etanol, arzén, UV sugárzás), éhezés, túltáplálás, oxigén hiány (hipoxia), kizáradás (vízhiány) a hőszokkfehérjék expressziója fokozódik. A HSP-k aktiválódása növeli a sejt stressz toleranciáját és citoprotekciót eredményez (6. ábra) (Morimoto 1993). Ha azonban a stresszhatás következtében a sejt fehérjék károsodásának mértéke már nem kompenzálható, a stresszfehérjék hozzájárulnak a károsodott fehérjék biztonságos lebontásához.

A 70 kDa-os stresszfehérjék feladata az emberi szervezetben, a sejtek védelme a hőmérséklet, a pH eltolódás és az oxidatív stresszhatásokkal szemben. Az eukarióta sejtekben számos, kismértékben különböző 70 kDa-os HSP található. Ezek közé tartozik az állandóan expresszálódó 73 kDa molekulatömegű Hsc73, átlagosan a sejt fehérjék 3%-át teszi ki, funkciója az újonnan szintetizálódott fehérjék feltekerése, fehérjék membránon keresztül történő transzlokációja, fehérje komplexek össze- és szétszerelése, fehérjék aggregálódásának megakadályozása. Az endoplazmás retikulumban található a dolgozatban már említett GRP78, továbbá ebbe a családba tartozik a mitokondriális HSP70 (mtHSP70) és az indukálható 72 kDa molekulatömegű HSP72 is (Kurucz és mtsai 2002; Daugaard és mtsai 2007).



**6. ábra: A sejtek belső védekező rendszere – stresszválasza a különböző fiziológias és környezeti változásokkal szemben.**(Westerheide 2009) Rövidítések: HSF- Hősokkfaktor; HSE-Hősokkelem.

Az elmúlt években egy új paradigma került előtérbe az inzulin rezisztencia, a metabolikus szindróma és a cukorbetegség magyarázatára. Ennek értelmében az inzulin érzékeny szövetekben (vázizomzat, zsír, máj, szív) sejten belüli hősokkfehérje csökkenés, vesztés következik be, mely kulcs szerepet játszik az inzulin rezisztencia, a testsúlynövekedés és a metabolikus szindróma kialakulásában (Hooper és mtsai 2005; Hooper 2009).

A legújabb humán klinikai eredmények azt mutatják, hogy az elhízás önmagában is HSP expresszió csökkenést eredményez (Henstridge és mtsai 2010). Hotamisligil és munkatársai (Ozcan és mtsai 2004; Ozcan és mtsai 2006) kimutatták, hogy a kis molekulású kémiai chaperonok, amelyek stabilizálják a fehérje szerkezetet és elősegítik a mutálódott fehérjék eliminálását, képesek lehetnek kivédeni az inzulin rezisztenciát és a II-es típusú diabéteszt. Hooper klinikai megfigyelései szerint a hővel fokozott HSP expresszió jelentősen javítja az inzulin rezisztenciát (Hooper 1999).

Nemrégiben Febbraio és munkatársai végeztek hipertermiás vizsgálatot egereken, ahol az állatok magas zsirtartalmú tápot kaptak, így modellezvén a túlsúlyt. Az egereket 16 héten át heti 6 alkalommal 15 percig melegítették termostakaróval, míg a testhőmérsékletük 41°C-ra emelkedett. Megfigyelésük szerint a melegítéstől számított 24 órán belül a HSP72 fehérje szintje emelkedett a vázizomban, májban, zsírszövetben. A magas zsirtartalmú táp gátolta a hőmérséklet emelkedésre történő HSP72 szint fokozódást. A hőterápia megelőzte az éhomi

hiperglikémiát, hiperinzulinémiát, inzulin rezisztenciát, és glukóz intoleranciát. A zsírdús táp fokozta, a hőkezelés pedig gátolta a JNK foszforilációt (Chung és mtsai 2008).

Gupte és munkatársai hasonló vizsgálatot végeztek patkányokon. Az állatokat zsírdús tápon tartották, és hetente egyszer 20 perces forró vizes fürdővel a testhőmérsékletüket 41,5°C-ra melegítették. A hipertermia cukorháztartásra gyakorolt pozitív hatásán, illetve gyulladás csökkentő hatásán túl (melyeket Febbraio és munkatársai szintén megfigyeltek) megállapították, hogy a test és a mellékhere zsír tömege is csökkent, holott az elfogyasztott táp mennyisége és a mozgás mennyisége megegyezett a hőterápiában nem részesült, kontroll állatokéval. Ezt a csökkent testsúlynövekedést részben magyarázza a mitokondriális enzim aktivitás fokozódása (citrát szintáz és citokróm oxidáz), a HSP60 szint fokozódása, és az a megfigyelés miszerint már egy egyszeri hő stressz is fokozza a zsír oxidációt vázizomban. Ezen vizsgálat során bizonyítást nyert az is, hogy a hőterápia fokozza az inzulin stimulált cukor felvételt, és az inzulin szignált (Gupte és mtsai 2009). Hővel vagy egyéb módon történő HSP72 szint növekedés gátolja a JNK foszforilációt (Gabai és mtsai 1997; Park és mtsai 2001), NF $\kappa$ B aktivációt és transzlokációt, és a TNF $\alpha$  gén transzkripcióját (Meldrum és mtsai 2003).

Kurucz és munkatársainak 2002-ben publikált eredményei mutatták először a hsp72 mRNS csökkent expresszióját II-es típusú cukorbetegség vázizomzatában (Kurucz és mtsai 2002). 2008-ban Febbraio és munkacsoportja vizsgálta a HSP72 és JNK szintet egészséges és inzulin rezisztens emberek vázizom szövetében. Megállapították, hogy a HSP72 fehérje expresszió jelentősen csökkent inzulin rezisztens állapotban az egészségeshez képest (Chung és mtsai 2008). Ezzel a csökkenéssel egy időben a JNK foszforiláció vagyis aktivációjának fokozódása volt megfigyelhető.

Nemrégiben befejezett *in vitro* tanulmányok mutattak rá a membrán lipid domének dinamikus átrendeződésének fontosságára a stressz érzékelés és jelátvitel során. Különböző patológiás állapotok, mint daganatos megbetegedés, cukorbetegség és neurodegeneratív megbetegedések együtt járnak a sejt membrán fizikai állapotának és lipid összetételének speciális változásával és a hősokkfehérjék mennyiségének sejten belüli módosulásával. Feltételezések szerint a membrán állapotában és a HSP mennyiségében bekövetkező változások nem véletlenek, hanem „direkt” kapcsolatban állnak, a membrán „tökéletlensége” eredményezi a szuboptimális hsp gén expressziót. Ezek a megfigyelések nem csak a membrán és membrán lipidek fontosságát hangsúlyozzák a hősokkválaszban, de ésszerű magyarázatot adnak a HSP indukáló gyógyszerjelöltek hatásmechanizmusára (Gombos és mtsai 2011).

Egyre több bizonyíték utal arra, hogy direkt kapcsolat van a környezeti stressz által okozott HSP képződés és a membrán lipid összetételének változása között (Balogh és mtsai 2005; Balogh és mtsai 2010; Nagy mtsai 2007). Ez a „membrán érzékelő” hipotézis feltételezi, hogy a fehérje denaturáción és a nukleinsav konformációs zavarokon kívül a stresszfehérje jelátviteli út aktiválódás a sejt membránból is kiindulhat (Vígh és mtsai 2007; Vígh és mtsai 1998). Feltételezések szerint, a membrán teljes fizikai állapotának megváltozása helyett, inkább a speciális membrán mikrodomének - raftok átrendeződése, helyi nem kettős réteg struktúrák alakulása, és/vagy olyan különleges lipid molekulák összetételének megváltozása, melyek közvetlenül részt vesznek a lipid-fehérje kölcsönhatásokban, képesek stimulust szolgáltatni a hősokkfehérje gének aktiválódására vagy elcsendesítésére (Gombos és mtsai 2011).

A plazma membránhoz kapcsolt HSP válaszjel köthető számos membránba lokalizált receptor fehérjék, transzmitterek, lipázok és egyéb molekulák károsodott működéséhez (Escribá és mtsai 2008; Horváth és mtsai 2008).

Az utóbbi években membrán lipid, mint lehetséges gyógyszer target, jelentősége folyamatosan nő, melyet a lipid-terápia fogalmanak bevezetése is kiválóan jelez (Crul és mtsai 2013).

#### 4.4 HŐSOKKFEHÉRJE INDUKÁLÓ MOLEKULÁK

A hőmérséklet mellett számos vegyület képes HSP expresszió fokozására a hőmérséklet változásától függetlenül (Vígh és mtsai 1997). Néhány vegyület, ide tartoznak a nem toxikus hidroxilamin származékok (Akerfel és mtsai 2010), amelyek önmagukban nem indukálják a klasszikus hősokkfehérje választ, sokkal inkább felerősítik az enyhe fiziológiás vagy pathofiziológiás stressz által kiváltott HSP expresszió fokozódást. Ennek következtében a HSP ko-indukálók különleges gyógyszerjelöltek, hisz úgy fokozzák a HSP expressziót a beteg sejtekben, hogy közben az egészségesekre nincsenek jelentős hatással (Sóti és mtsai 2005; Vígh és mtsai 1997; Vígh és mtsai 2007).

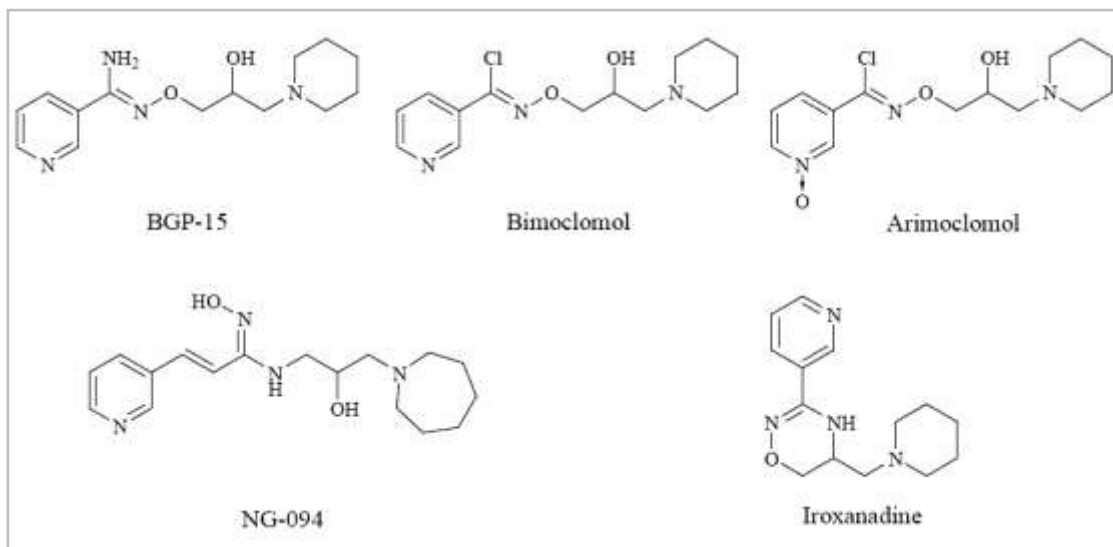
Számos molekuláról ismert, hogy a stresszfehérjék szintézisét fokozni képes. Churcher és munkatársainak összefoglaló tanulmánya szerint a gyógyszerfejlesztésre érdemes stresszfehérje indukálók között előkelő szerepet töltenek be a szintetikus hidroxilamin (HA) származékok (Sloan és mtsai 2009), melyeknek fejlesztése Magyarországról indult, és közülük három gyógyszerjelölt is elérte már a klinikai vizsgálati stádiumot. A HA jellemzője,

hogy önmagukban nem okoznak stresszfehérje szintézist, de fokozzák a különböző hatások által kiváltott stresszválaszt (ko-indukció).

Az adaptív és protektív hő sokkválasz segítése lehetővé teszi, hogy a HA-ok hatásosak lehetnek nagyszámú olyan megbetegedés kezelésében, amelyeknek patomechanizmusában a stresszválasz, a sejt és/vagy szövet károsodás jelentős szereppel bír (Sóti és mtsai 2005). Fontos megjegyezni, hogy már az első tudományos publikáció során bizonyítást nyert, hogy a HA-ok úgy segítik elő a hő sokkválaszt, hogy közben nem toxikusak (Vígh és mtsai 1997).

A HA molekulacsalád tagjai (7. ábra):

- Bimocloamol
- Arimocloamol
- Iroxanidine
- NG-94
- BGP-15



**7. ábra: Hidroximsav molekulacsalád tagjainak molekulaképletei**

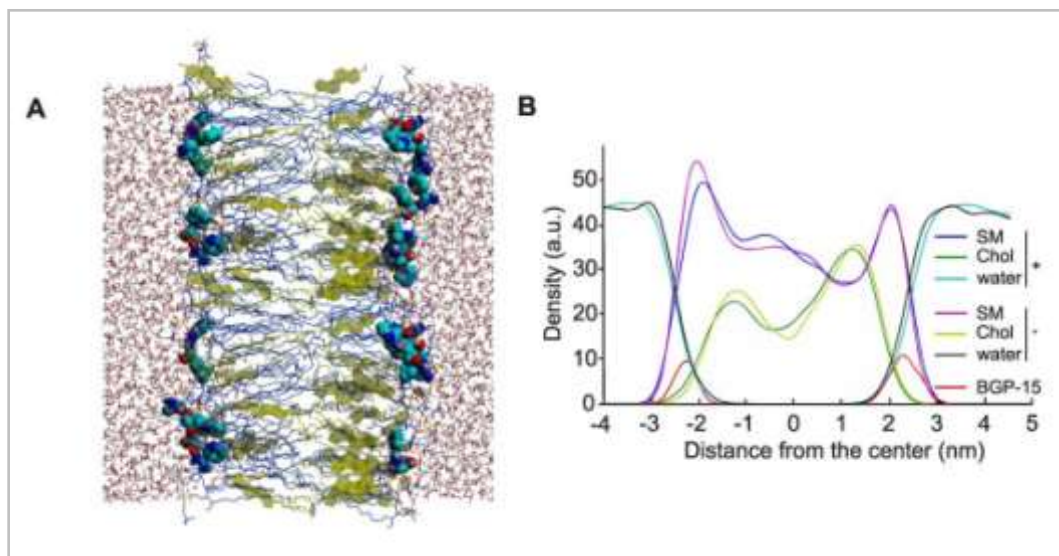
#### 4.5 BGP-15 ÚJ TÍPUSÚ INZULINÉRZÉKENYÍTŐ

A BGP-15 egy HA származék és farmakológiai hatásaiban több hasonlóságot mutat a közeli kémiai rokon HA gyógyszerjelöltekkel (arimocloamol, bimocloamol). Számos közlemény dokumentálta a BGP-15 HSP indukáló és széles körű citoprotektív hatását (Rác és mtsai



2002). A BGP-15 szignifikánsan csökkentette a platina és taxol származékok (kemoterápiás szerek) okozta vese és idegkárosodást a tumor ellenes hatás befolyásolása nélkül (Bárdos és mtsai 2003). Ennek következtében a molekula klinikai fejlesztése, mint kemoprotektív ágens indult el. Később, mind állatkísérletes, mind humán vizsgálatok igazolták a vegyület inzulinérzékenyítő hatását, mely a gyógyszerjelölt, a kemoprotektív hatásnál, jóval alacsonyabb dózisanál már megmutatkozott (Kolonics és mtsai 2006). Az inzulinérzékenyítő hatás felismerése után a BGP-15 fejlesztése új típusú inzulinérzékenyítő antidiabetikum előállítására folytatódott tovább.

A BGP-15 inzulin szenzitizáló gyógyszerjelölt, hatásmechanizmusában eltér a ma klinikai használatban levő gyógyszerektől. A gyógyszerjelölt pontos hatásmechanizmusa nem ismert, de az bizonyítottan látszik, hogy interferál a sejt membránnal speciális lipid kölcsönhatásokon keresztül. A BGP-15 membránokkal történő kölcsönhatásait Vigh és munkatársai *in silico* molekula szimulációs vizsgálattal mutatták ki (8. ábra).



**8. ábra: BGP-15 és membrán kölcsönhatása in silico.** A) Az atomok és molekulák elhelyezkedése az SM/Chol membránban a szimuláció 5ns után. SM – kék; Chol – sárga. B) BGP-15 (piros) molekula elhelyezkedése és az SM/Chol membránok strukturális változásai a BGP-15 hozzáadása után. A kontroll membránt az – jelöli, míg a BGP-15-el kezeltet a +. Rövidítések: SM – szfingomielin; Chol - koleszterol (Gombos és mtsai 2011).

A BGP-15 kezelés értelmezhető úgy, mint egy membrán lipid kezelés, melynek következtében a hsp gének aktiválódnak. Mint már korábban említettem, számos adat bizonyítja a sejt membrán átrendeződésének szerepét a hőszokkfehérjék expressziójának

fokozódásában (Vigh és mtsai 1998, 2007; Balogh és mtsai 2005, 2010; Nagy és mtsai 2007). Legújabb megfigyelések alapján a BGP-15 képes átrendezni a koleszterolban gazdag lipid platformokat (lipid raftokat), a nem toxikus hőmérséklet emeléshez (melegítéshez) hasonlóan, melynek következtében a membrán létrehozza és továbbítja a stressz szignált. A gyógyszerjelölt HSP aktiválása a Rac1 jelátviteli kaszkádon keresztül történik, amikor is a hő sokk faktor 1 (HSF1) gyors acetilációjának gátlása révén növeli a HSF1 – heat shock element kapcsolódási idejét, így fokozva a nettó HSP választ (Gombos és mtsai 2011). HSP indukáló hatása révén felfüggeszti az inzulin rezisztencia egyik általános útját, a JNK által okozott IRS1 gátló foszforilációt, így oki mechanizmusra hatva állítja helyre az inzulin jelátvitelt, következésképpen az inzulin érzékenységet.

A HSP72 aktivációjának hatékonyságotobezítés talaján kialakult inzulin rezisztencia kezelésére leptin hiányos ob/ob egértörzsben Febbraio és munkacsoportja vizsgálta.

A 15 napos 15mg/kg per os BGP-15 terápia jelentős HSP72 expresszió fokozódáshoz vezetett vázizomban. Következésképpen a BGP-15 kezelés hatására csökkent a JNK foszforiláció, az éhomi cukor és inzulinszint. Továbbá a clamp vizsgálat folyamán a cukor felhasználás is fokozódott. Ezek az adatok arra engednek következtetni, hogy a HSP farmakológiai aktiválásával az inzulin érzékenység fokozható számos inzulin érzékeny szövetben *in vivo*, az elhízás genetikai modelljében. Valószínűsíthetően ezen hatás mechanizmusában közrejátszik a HSP72 fehérje expresszió fokozódása a megnövekedett HSF1 expresszióján és foszforilációján keresztül, mely a JNK aktivitás csökkenéséhez vezetett (Chung és mtsai 2008). Mindezen adatok alapján látható, hogy a HSP72 aktiváció fokozza az inzulin érzékenységet, a JNK aktivációjának csökkentésén keresztül.

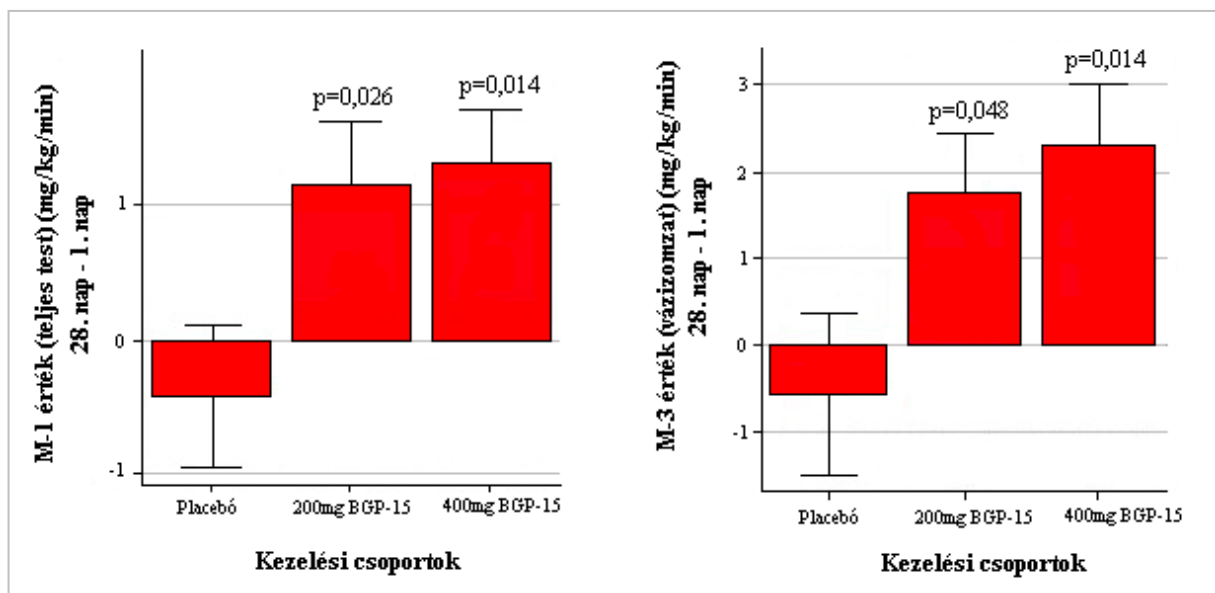
A preklinikai vizsgálatok bizonyították, hogy a BGP-15 több más típusú diabétesz állatmodellen is hatékony. A BGP-15 inzulinérzékenyítő hatása jól megmutatkozott a genetikailag inzulin rezisztens Goto Kakizaki patkány modellen is. Ezt a kísérleti modellt korai  $\beta$  sejt elégtelenség, inzulin rezisztencia, és normál testsúly jellemzi. A vizsgálat, mely BGP-15 hatását hasonlította össze két a klinikumban használt antidiabetikummal szemben, eredményei szerint a BGP-15 dóziszfüggő módon, a rozigitazonnal és a metforminnal összemérhető mértékben javította az inzulin rezisztenciát (Kolonics és mtsai 2006).

Humán fázis I, biztonsági klinikai vizsgálatokban az önkéntesek egyszeri adás esetén napi 800mg per os dóziséig, kétszeri adás után napi 600 mg per os dóziséig laboratóriumi és klinikai tünetek nélkül tolerálták a BGP-15 kezelést. A vegyület kedvező farmakokinetikai

tulajdonságokkal rendelkezik, nincs jele kumulációnak. A vér-agy gáton nehezen jut át, 250 mg féleletideje kb. 2 óra. A szervezetből a vizelettel ürül.

Két humán proof of concept klinikai vizsgálat bizonyította, hogy a gyógyszerjelölt inzulinérzékenyítő hatását kifejti emberben is. Az első vizsgálatban 42 inzulin rezisztens, de nem diabéteszes, antidiabetikummal nem kezelt betegeken vizsgálta munkacsoportunk a placebo és BGP-15 két dózisának (200 mg és 400 mg) négy hét alatt kifejtett hatását. A kezelés hatékonyságát a kezelés megkezdése előtt és után clamp módszerrel meghatározott inzulin érzékenység különbségével határoztuk meg. A placebóval kezelt csoportban romlott az inzulin érzékenység, míg a napi 200 illetve 400 mg BGP-15-tel kezelt csoportokban statisztikailag szignifikáns, biológiailag jelentős javulást tapasztaltunk. A BGP-15 két dózisának hatása közt, feltehetően a kis esetszám miatt nem volt statisztikailag szignifikáns különbség.

Összefoglalva tehát mind a 200 mg, mind a 400 mg BGP-15 kezelés, 28 nap alatt szignifikánsan javította az inzulinfüggő glukóz felvételt, az inzulin szenzitivitás mértékét (9. ábra) (Literáti-Nagy és mtsai 2009).



**9. ábra: BGP-15 szignifikánsan javította inzulin rezisztens betegek teljes test és vázizomzat inzulin rezisztenciáját.**(Literáti-Nagy és mtsai 2009)

## Olanzapin és BGP-15 kombináció fázis I klinikai vizsgálata

Állatkísérletekben a BGP-15 csökkentette az antipszichotikumok inzulin rezisztencia és testsúlyfokozó hatását, ami indokoltta a BGP-15 klinikai vizsgálatát az atípusos antipszichotikumok metabolikus mellékhatásának csökkentésére. A klinikai vizsgálat első fázisában a két szer farmakokinetikai interakcióját kellett elsődlegesen megvizsgálni, de az olanzapin hosszú felezési ideje alatt a 17 naposra tervezett vizsgálat egyben lehetőséget adott farmakodinámiás vizsgálatokra is.

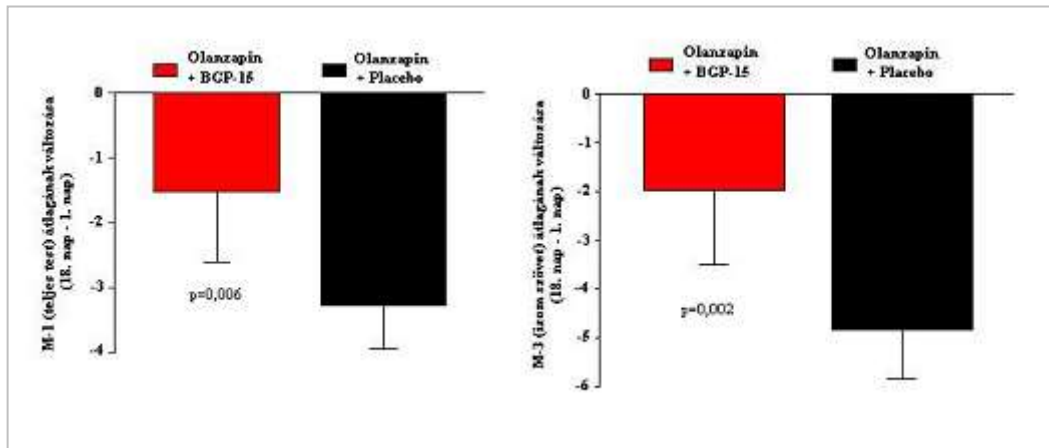
A 17. napon munkacsoportunk nem talált szignifikáns különbséget az olanzapin szérumszintjében, a placebóval és a BGP-15-el kezelt csoportok közt.

Ahogy várható volt, az olanzapin tényleges változásokat idézett elő az életmódban. Az önkéntesek mindkét csoportban a napi aktivitásuk csökkenéséről számoltak be, többet aludtak, nőtt az étvágyuk, többet ettek. Ennek megfelelően mindkét csoport testsúlya statisztikailag szignifikánsan növekedett (~2kg).

Munkacsoportunk nem talált szignifikáns különbséget a placebo + olanzapin (2,2kg), valamint az olanzapin + BGP-15-el (1,9kg) kezelt csoportok testsúlynövekedése közt.

Az 1. és 18. napon elvégzett hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp adatai szerint az olanzapin jelentős inzulin érzékenység csökkenést eredményezett, mind izomszövetre, mind teljes test felületre vonatkoztatva. Izomszövetre vonatkoztatva ez a csökkenés -27% volt ( $p = 0,002$ ).

A BGP-15-el egyidejűleg kezelt csoportban az olanzapin által okozott inzulin rezisztencia jelentősen kisebb mértékű volt és statisztikailag szignifikáns módon különbözött a placebóval kezelt csoporttól (Literáti-Nagy és mtsai 2010) (10. ábra).



**10. ábra: BGP-15 kezelés szignifikánsan csökkentette az olanzapin által kialakult inzulin rezisztenciát egészséges önkénteseken a teljes testre és vázizomzatra vonatkoztatva.** (Literáti-Nagy és mtsai 2010)

Nagyon fontos észrevétel, hogy a BGP-15 védőhatása az inzulin által kiváltott glukóz felvételre statisztikailag legerősebben az izomban, az inzulin legfőbb célszervében volt megfigyelhető (10. ábra).

## 5 CÉLKITŰZÉSEK

A II-es típusú cukorbetegség kialakulhat elhízás, valamint gyógyszer mellékhatások következtében. Ismert az atípusos antipszichotikumok diabetogén hatása. Ennek kialakulása a jelen szerek alkalmazása esetén elkerülhetetlen, terápiája nem megoldott. A HA származék BGP-15 eddigi hatásainak ismeretében feltételeztük, hogy kedvezően befolyásolhatja az atípusos antipszichotikumok által okozott cukorbetegséget. Ezért célul tűztük ki, hogy különböző rendszerekben és modellekben a BGP-15 ezen hatását megvizsgáljuk és bizonyítjuk hipotézisünket, mely szerint kedvező hatású az atípusos antipszichotikumok okozta metabolikus mellékhatásokra, valamint azt, hogy más antidiabetikumokkal összehasonlítva a BGP-15 eredményesebb az inzulin rezisztencia kivédésében.

Célkitűzésünket különböző rendszereken, három különböző típusú objektumon végzett vizsgálatokkal kívántuk igazolni: sejtes rendszereken, állatkísérletekben, valamint *ex vivo* humán gyógyszerkísérletekből származó vérmintákon végzett vizsgálatokból adódó megfigyelésekkel.

1. Mivel jól ismert az adipociták meghatározó szerepe a II-es típusú cukorbetegség kialakulásában, ezért vizsgálatainkat részint *in vitro* differenciáltatott 3T3-L1 zsírsejteken végeztük, mint az ilyen típusú károsodások vizsgálatának ismert modell sejt kultúrájában. A károsítás sokféle módon kiváltható. Kísérleteinkben az adipociták jellemző metabolikus változásait ezúttal atípusos antipszichotikumok adásával idéztük elő. A lipid metabolizmus változások kulcsjelensége a zsírcsepp (lipid droplet) képződés. Ezért a különböző jellemző elváltozások közül a BGP-15 befolyásoló hatását vizsgáltuk az atípusos antipszichotikum (klozapin) kezelés által fokozott zsírcsepp képződésre.

2. A BGP-15 esetleges protektív hatás tanulmányozásának másik vizsgálati rendszereként az állatkísérleteket választottuk. Az atípusos antipszichotikumok adásával előidézett metabolikus károsodásokat egészséges Wistar patkányokon 21 napig tartó riszperidon, 2 hónapos klozapin, 35 napos klozapin, továbbá 5 napos olanzapin kezelésekkkel idéztük elő. A károsodásokat és a BGP-15 hatását hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp módszer alkalmazásával kívántuk mérni. Ezekben a kísérletekben terveztük továbbá a BGP-15 hatásának

összehasonlítását más a klinikumban használatos antidiabetikumokkal, metforminnal valamint roziglitazonnal.

3. A túlsúly és az inzulin rezisztencia genetikai modelljén Zucker obese patkányokon vizsgáltuk a vitatott fogyasztószer, rimonabant hatását, önmagában, valamint esetenként BGP-15-el való kombinációkban. Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk annak érdekében, hogy állatkísérletekben mérjük fel a BGP-15 esetleges terápiás indikációját, valamint előnyét a rimonabanttal szemben.

4. A BGP-15 hőszokkfehérje indukáló hatását különböző rendszereken leírták. Kérdés, hogy ez a hatás kimutatható-e a BGP-15 humán hatásainál, illetve összefügg-e esetleges antidiabetogén hatásával atípusos antipszichotikumokkal kiváltott cukorbetegségben. Atípusos antipszichotikumokkal, illetve BGP-15-el végzett fázis I klinikai vizsgálatokban az inzulin rezisztencia és a vér perifériás magvas sejteinek HSP szint változás összefüggésének vizsgálatát terveztük elvégezni olanzapin + placebo és olanzapin + BGP-15 kezelésben részesült egészséges önkéntesekből származó vérmintákban.

## 6 MÓDSZEREK

### 6.1 *IN VITRO* VIZSGÁLATOK

3T3-L1 preadipocitákat 10% (v/v) borjú szérumot tartalmazó Dulbecco által módosított Eagle's médiumban (DMEM) tenyésztettük 70-80% konfluencia szintig. Az adipogenezis indukciója Giri által leírt módon történt (Giri és mtsai 2006) a 0. napon. A kontroll sejteket a korábbi tenyésztő médiumban tartottuk tovább. Az adipogenetikus médium 1,7  $\mu\text{mol/L}$  inzulint, 0,5  $\text{mmol/L}$  3-izobutil-1-metil-xantint (IBMX), és 1  $\mu\text{mol/L}$  dexametazont (DEX) tartalmazott. Egyidejűleg a sejtek egy részét 13  $\mu\text{M}$  klozapinnal és 10  $\mu\text{M}$  BGP-15-el kezeltük. Három nap múlva a sejteket kétszer mostuk előmelegített 0,25%-os tripszin-EDTA oldattal, majd 37°C-on 5 percig inkubáltuk. Ezek után a sejteket finoman reszuszpendáltuk és kétszer mostuk foszfát pufferban (PBS), majd 4°C-os PBS-ben ismét reszuszpendáltuk és az áramlási citometriás (FACS Calibur, Beckton Dickinson) vizsgálatig jégen tartottuk. A 3T3-L1 sejtek scatter plotjait 4 (R1-R4) részre osztottuk a sejtek SSC (Side Scatter) értéke (granularitás) alapján (Lee és mtsai 2005), ahol az R1 régió volt a legkevésbé granulált. A kontroll sejtek többsége (ahol nem volt adipogenezis indukció) az R1 régióba került. Az R2-R4 régiók azonos nagyságú SSC tartományt foglaltak magukba.

### 6.2 ÁLLATKÍSÉRLETEK

Az antipszichotikumok vizsgálata 210-230g súlyú, nőstény Wistar patkányokon (Charles River) történtek. A rimonabant és BGP-15 kombinációt tanulmányozó kísérleteket 400-420g súlyú, hím Zucker obese patkányokon végeztük. Az állatházban 23-25°C közötti hőmérsékletet és 50-70% páratartalmat tartottunk fent. Az állatoknak szabad hozzáférésük volt a laboratóriumi táphoz és csapvízhez. Egy hét akklimatizálódás után kezdtük a kezeléseket.

Az állatokat olanzapinnal, klozapinnal, BGP-15-el, és rimonabanttal szájon át, riszperidonnal pedig szubkután kezeltük.

A szisztémás kapszaicin előkezelés a következő adagolás szerint történt:

1. nap – 10mg/kg 2%-os kapszaicin oldat szubkután

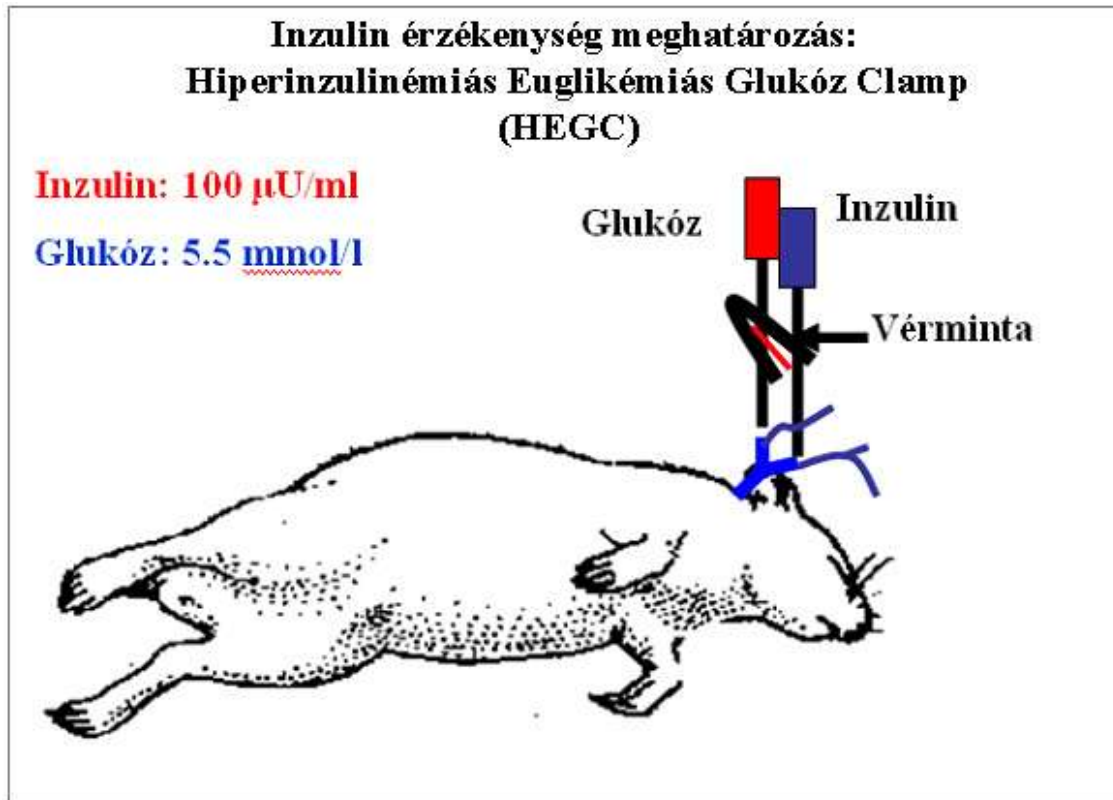


2. nap - 30mg/kg 2%-os kapszaicin oldat szubkután
3. nap - 50mg/kg 2%-os kapszaicin oldat szubkután

Kapszaicint fiziológias sóoldatban oldottuk fel, mely tartalmazott még 3% v/v etanolt és 4% v/v Tween 80-t (Ferdinandy és mtsai 1997). A szisztémás kapszaicin előkezelést követő 7 nap regeneráció után kezdtük el az állatok kezelését.

HEGC (hiperinulinémiás euglikémiás glukóz clamp módszer)

Az inzulin érzékenységet hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp (HEGC) (DeFronzo és mtsai 1979) módszerrel határoztuk meg. A patkányok egyik oldali artéria carotis externájába és véna jugulárisába kanült helyeztünk (Vygonüle V 22, Vygon GmbH & Co., Aachen, Germany). A glukóz- és az inzulin infúziós szárazakat 3-ágú csapon keresztül csatlakoztattuk a vénás kanülhöz. 30 perces stabilizációs periódus után infúziós pumpa segítségével (Syringe Pump 11 Plus – Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts, USA) 10 mU/kg humán inzulint (NOVO Nordisk, Copenhagen, Denmark) infundáltunk 120 percig az egyik vénás infúziós száron keresztül. Ez az inzulin infúziós sebesség azt eredményezte, hogy a plazma inzulin immunoreaktivitás értéke  $100 \pm 5 \mu\text{U/ml}$  volt a steady state ideje alatt (11. ábra).



**11. ábra: Hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp – sematikus ábra**

A vércukorszint meghatározásához 10 percenként vérmintákat (0,2 ml) vettünk az artériás kanülből. A vércukor szintet a második vénás infúziós kanülon keresztül indított váltakozó sebességű glukóz infúzió révén, kb.  $5,5 \pm 0,5$  mmol/l értéken tartottuk fenn (normoglikémia). Amikor a vércukorszint legalább 20 percig stabilizálódott, akkor ezt az állapotot tekintettük a steady state állapotnak. Ez általában az inzulin infúzió kezdetét követő 100 percen belül megtörtént. A steady state állapotban további vérmintákat (0,2 ml) vettünk a plazma inzulin meghatározásához 10 perces intervallumokban. A steady state ideje alatt megfigyelt glukóz infúziós sebesség (mg/kg/min) jellemezte az inzulin érzékenységet (DeFronzo és mtsai 1979). Minden clamp meghatározást egy megelőző, 12 órás éhezési periódust követően végeztünk el.

### 6.3 HUMÁN KLINIKAI- FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK RÉSZEKÉNT VÉGZETT *EX VIVO* VIZSGÁLATOK

A BGP-15 és az olanzapin fázis I farmakokinetikai interakció vizsgálatát kettősvak, randomizált, placebo kontrollált módon, egészséges önkénteseken végeztük. Az olanzapin mellékhatásainak minimalizálása érdekében az önkéntesek kezdetben alacsonyabb 5 mg, majd a vizsgálat végéig 10 mg olanzapint kaptak. A BGP-15 dózisa mindvégig változatlan napi 400 mg volt. A vizsgálat elsődlegesen a két vegyület farmakológiai kölcsönhatását vizsgálta. A 17 napos vizsgálati időtartam lehetőséget adott másodlagos, farmakodinámias végpontok vizsgálatára is, ami magában foglalta a testsúlyváltozás és az inzulin érzékenység meghatározását hiperinzulinémiás euglikémiás glukóz clamp teszttel mérve.

A vizsgálat 1. és 18. napján vénás vért vettünk, a perifériás mononukleáris sejtek biokémiai vizsgálatára. Az 5 ml LiHep csőbe levett vérből Ficoll grádiensen izoláltuk a mononukleáris sejteket. A sejtekből fehérjét izoláltunk, és az össz-fehérje koncentrációt Bio-Rad cég Lowry módszerén alapuló mikroplate readerrel (Fluostar) határoztuk meg. A HSP72 fehérje szintet Western Blot technikával határoztuk meg. A mintákat Laemmli mintapufferben (5X tömény: 250 mM/L Tris HCl, pH 6.8, 50% glicerin, 10% SDS, 5% merkaptotanol, 0,002% brómfenol kék) dolgoztuk fel. 10%-os SDS-poliakrilamid gélen futattuk meg, és PVDF membránra transzferáltuk. A membránt TBST oldatban (10mM/L Tris HCl, 150mM NaCl, 1% Tween 20) mostuk 3x5 percig majd 5%-os zsírmentes tejporth tartalmazó TBS oldatban blokkoltuk a membránt 1 órán keresztül. A membránokat ezek után elsődleges antitest oldat (anti-HSP72) (Lifespan Bioscience Inc.) 1:15000-es hígításában inkubáltuk egy éjszakán át 4°C-on. TBST-ben mostuk ismét 3x5percig, majd torna-peroxidáz konjugált anti-nyúl másodlagos antitest (Sigma Aldrich) TBS-5%-os tejes oldatában, 1:2000 hígításban inkubáltuk a membránokat 25°C-on, 1 órán keresztül, majd ismét 3x5 perces mosás következett. A létrejött immunkomplexet kemilumineszcens detekciós módszerrel (ECL, Amersham) röntgen filmen tettük láthatóvá. A HSP72 szignálok intenzitását a GAPDH fehérjére normalizáltuk. A denzitometriás analízishez AlphaEaseFc (version 6.0.0 Alpha Innotech Corporation) programot használtunk.

## 7 EREDMÉNYEK

Eredményeinket az alábbi tagolásban foglaljuk össze:

- 7.1 sejtkultúrákon végzett vizsgálatok
- 7.2 állatkísérletes vizsgálatok
- 7.3 humán klinikai farmakológiai vizsgálatok részeként végzett *ex vivo* vizsgálatok

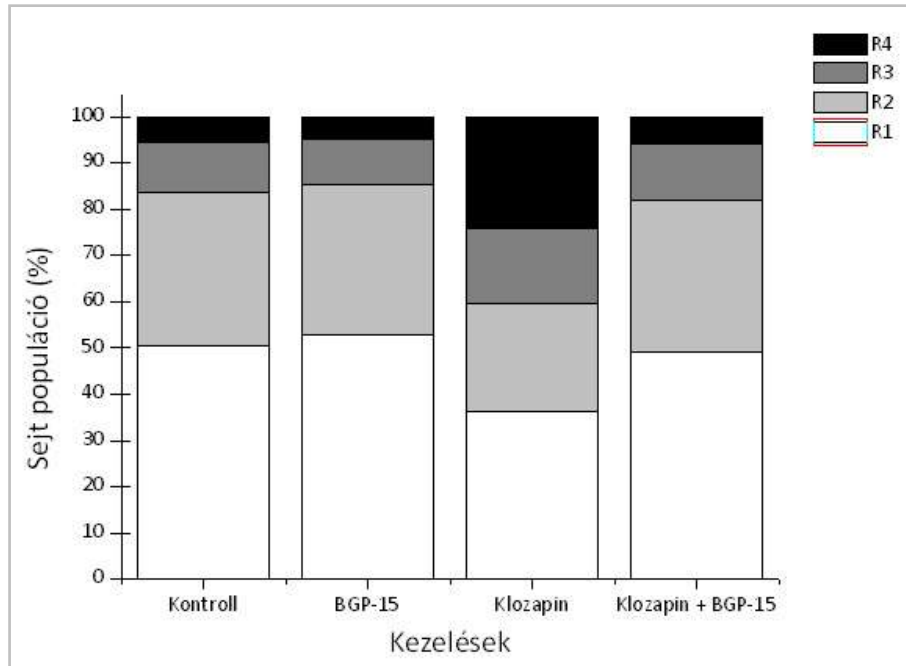
### 7.1 SEJTKULTÚRÁKON VÉGZETT VIZSGÁLATOK

A zsírsejtekben kialakuló metabolikus elváltozások alapvető sejtpatológiai jelentőségű folyamata a lipid droplet képződés. Ezért sejtkultúrában megvizsgáltuk, hogy ez klozapinnal kiváltható-e és ha igen, akkor a BGP-15 alkalmas-e ennek kivédésére.

#### **7.1.1 Klozapin és BGP-15 hatásának vizsgálata 3T3-L1 sejtek lipid droplet képzésére FACS módszerrel**

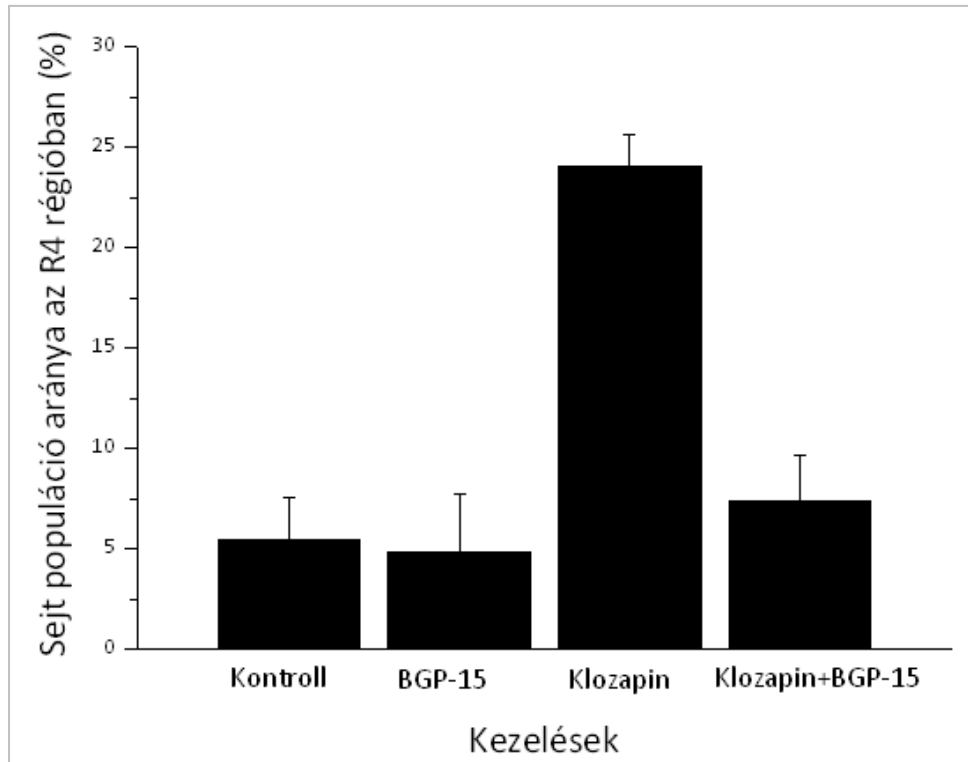
Kísérleteinkben a klozapin hatását 3T3-L1 sejtekben FACS vizsgálattal meghatározott granuláltság alapján tanulmányoztuk. A sejtek lipid droplet mennyiségét Lee és munkatársainak (Lee és mtsai 2005) módszere szerint becsültük meg. Meghatároztuk, hogy a BGP-15 hogyan befolyásolja a lipid droplet képződést.

A BGP-15-el kezelt sejt populáció és a kontroll sejt populáció zsírtartalmuk alapján közel azonos eloszlást mutattak (12. ábra). Az irodalmi adatoknak megfelelően 13 $\mu$ M koncentrációjú klozapin fokozta a magas granuláltságú (R4 régió) sejtek arányát (5,4% - 24,1%) (12; 13.ábra). A klozapinnal egyidejűleg alkalmazott BGP-15 kezelés meggátolta a klozapin hatására bekövetkező eltolódást a granulált sejtek arányában (13. ábra).



**12. ábra: BGP-15 hatása a klozapin kezelés által indukált zsírhalmozódásra 3T3-L1 sejtekben.** A sejtek tenyésztése és kezelése a módszereknél leírt módon történt. A 3T3-L1 sejteket 4 (R1-R4) kvadránsba osztottuk, a sejtek intracelluláris szemcsézettsége (granularitás) alapján. Az R1 régió a legkevésbé granuláris – legkevesebb zsírt tartalmazó sejtek csoportja; az R4 régió pedig a legtöbb zsírt tartalmazó sejteket foglalja magában. Az R1 régióba került a kontroll sejtek fele.

Következésképpen megállapítható, hogy a vártaknak megfelelően a klozapin fokozta az adipociták lipid droplet felhalmozódását, az egyidejű BGP-15 kezelés azonban megakadályozta ezt a hatást (13. ábra).



**13. ábra: A 3T3-L1 sejtek aránya a leginkább granulált, legtöbb zsírt tartalmazó kvadránsban.** A sejtek tenyésztése, kezelése és vizsgálata a módszereknél leírt módon történt. Az R4 régió a legtöbb zsírt tartalmazó sejteket foglalja magában. Az oszlop diagrammok 4 párhuzamos kísérlet átlagát mutatják. Az oszlopok a sejt populáció százalékos eloszlásának átlagát  $\pm$  s.d. mutatják.

Összefoglalva az egyidejűleg alkalmazott BGP-15 kezelés csökkentette a klozapin által kiváltott lipid akkumulációt.

## 7.2 ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK

*In vivo* kísérleteink során a BGP-15 hatását vizsgáltuk a túlsúly és az inzulin rezisztencia két különböző – genetikai és farmakológiai ágenssel (atípusos antipszichotikummal) provokált - modelljén. Az atípusos antipszichotikum gyógyszercsoportból a három legnagyobb testsúlyfokozó mellékhatással bíró antipszichotikum – riszperidon, klozapin, olanzapin – metabolikus hatásainak befolyásolhatóságát vizsgáltuk egészséges patkányokon. Az eltérő dózisokban alkalmazott akut és krónikus AAPD kezelések lehetővé tették számunkra, hogy

tanulmányozzuk a különböző metabolikus mellékhatások manifesztációjának sorrendjét, továbbá a BGP-15 hatását.

A túlsúly és az inzulin rezisztencia genetikai modellje a Zucker obese patkány, mely kitűnő mintája a humán elhízás talaján kialakuló inzulin rezisztenciának, II-es típusú diabétesznek. Ezért Zucker obese patkányokon is megvizsgáltuk a BGP-15 inzulinérzékenyítő hatását önállóan, valamint rimonabanttal kombinációban. A rimonabantot csökkentett dózisban is vizsgáltuk. Mértük inzulinérzékenyítő hatását önmagában adva továbbá szintén csökkentett dózisú BGP-15-el kombinációban adagolva.

### **7.2.1 A BGP-15 hatása a riszperidon által okozott metabolikus változásokra egészséges patkányokon**

Riszperidon hatását vizsgáltuk egészséges patkányokon a Módszerek fejezetben leírt módon. A kísérletet Ota és munkatársai által leírt módon végeztük, azokkal a változtatásokkal, hogy napi egyszeri kezelést alkalmaztunk kettővel szemben, továbbá nőstény patkányokat vizsgáltunk az Ota által leírt hímmel szemben (Ota és mtsai 2002). A csoportok mindegyike 10 állatot foglalt magába.

Kezelési csoportok a következők voltak:

1. Kontroll – fiziológiás sóoldat
2. 0,005mg/kg riszperidon
3. 0,05mg/kg riszperidon
4. 20mg/kg BGP-15
5. 0,005mg/kg riszperidon + 20mg/kg BGP-15
6. 0,05mg/kg riszperidon + 20mg/kg BGP-15

A 21 napig tartó krónikus kezelés során az állatok testsúlyának mérését hetente végeztük. Az éhomi vércukorszint meghatározása 4 óra éhezést követően szemzugarból vett vénás vérből történt Accu-Chek vércukor mérő használatával.

A riszperidon kezelés mindkét alkalmazott dózisban jelentős testsúlynövekedést eredményezett. Ezen megfigyelésünk megegyezik az irodalomban található eredményekkel (Ota és mtsai 2002). Magasabb riszperidon dózissnál a testsúlynövekedés is nagyobb, továbbá

az antipszichotikum 14 nap alatt szignifikáns testsúlynövekedést okozott mindkét dózisban, mely a 21 napos vizsgálat során, az utolsó héten már nem fokozódott tovább (1. táblázat).

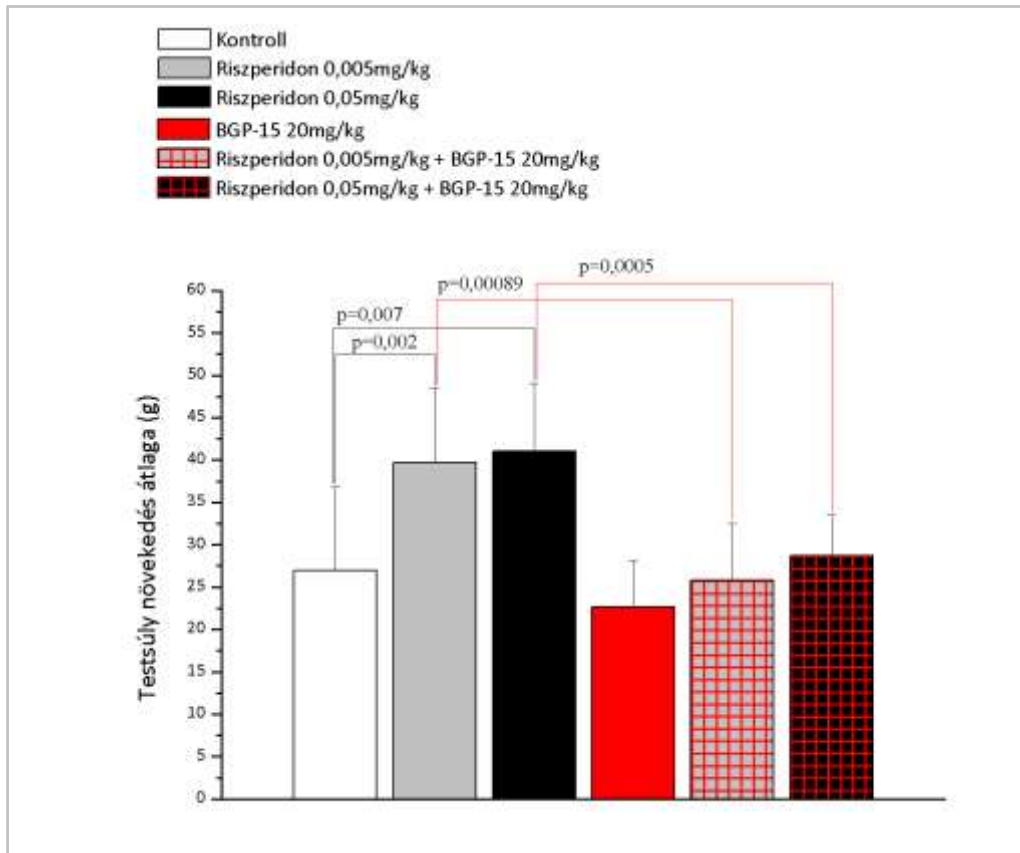
**1. táblázat: BGP-15 védőhatása riszperidon által kiváltott testsúlynövekedésre.**

Kezelés	Átlag testsúlynövekedés ± SD (g)		
	1. hét	2. hét	3. hét
Kontroll	10 ± 4,59	22,6 ± 7,38	27 ± 9,85
Riszperidon 0,005 mg/kg	18,2 ± 3,29*	39,8 ± 7,62*	39,7 ± 8,78*
Riszperidon 0,05 mg/kg	28,6 ± 7,51*	41,3 ± 10,11*	41,0 ± 8,11*
BGP-15 20 mg/kg	12,1 ± 5,21	19,6 ± 3,62	22,7 ± 5,39
Riszperidon 0,005 mg/kg + BGP-15 20 mg/kg	13 ± 5,2	21,9 ± 7,73 <sup>+</sup>	25,8 ± 6,68 <sup>+</sup>
Riszperidon 0,05 mg/kg + BGP-15 20 mg/kg	17,7 ± 7,87*	26,1 ± 9,5 <sup>+</sup>	28,7 ± 4,83 <sup>+</sup>

\*Statistikailag szignifikáns különbség a kontroll csoporthoz viszonyítva  $p < 0,001$ ; <sup>+</sup>Statistikailag szignifikáns különbség az azonos dózisú riszperidon csoporthoz viszonyítva  $p < 0,001$ .

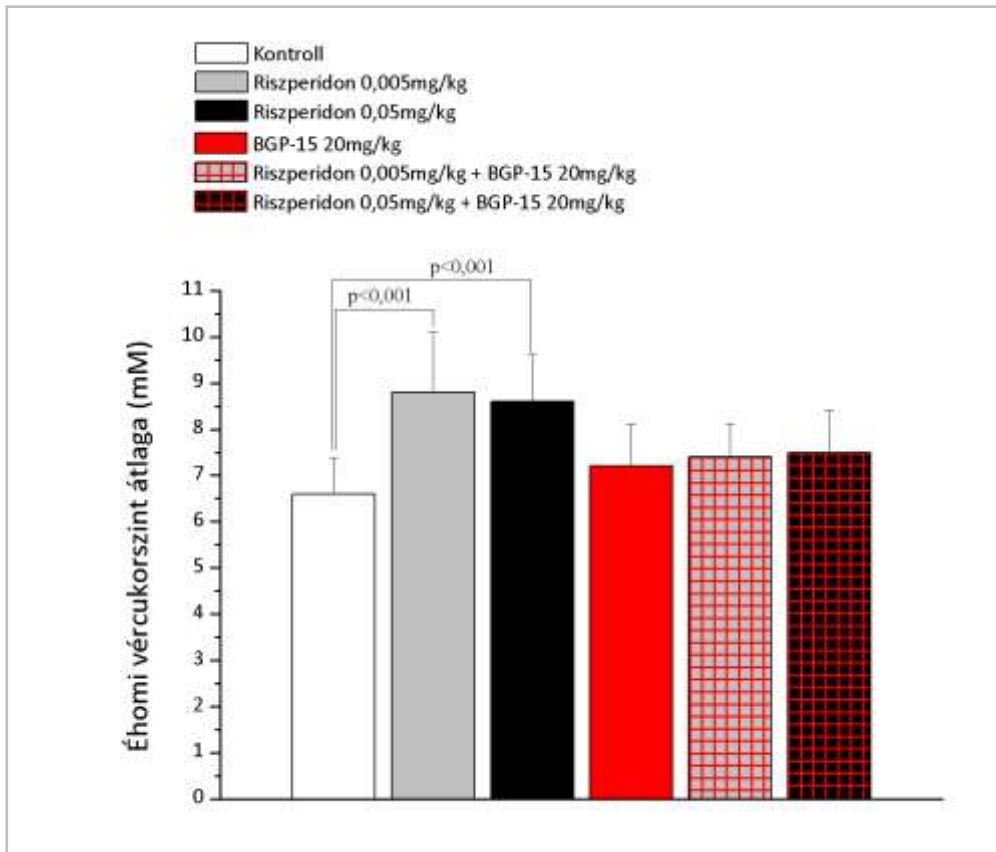
A riszperidonnal egyidejűleg alkalmazott 20mg/kg dózisú BGP-15 kezelés szignifikánsan csökkentette a testsúlynövekedés mértékét mind 0,005mg/kg, mind 0,05mg/kg riszperidon dózisonál (14. ábra).





**14. ábra: BGP-15 védőhatása 21 napig tartó riszperidon kezelés által indukált testsúlynövekedésre.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlop diagrammok az adott kezelési csoport testsúlynövekedésének átlagát  $\pm$  s.d mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt.

A következőkben megvizsgáltuk a 21 napos riszperidon kezelés hatását az éhomi vércukorszintre. Eredményeink szerint a riszperidon mindkét alkalmazott dózisban szignifikánsan növelte az éhomi vércukorszintet, riszperidonnal kombinációban a BGP-15 kivédte az AAPD hiperglikemizáló hatását. A BGP-15 kezelés önmagában nem volt hatással az egészséges patkányok éhomi vércukorszintjére (15. ábra).



**15. ábra: BGP-15 kezelés preventív hatása a riszperidon által okozott éhomi vércukorszint emelkedésre.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlop diagrammok az adott kezelési csoport éhomi vércukorszintjének átlagát  $\pm$  s.d mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt.

### 7.2.2 BGP-15 hatása a krónikus klozapin kezelés következtében kialakult metabolikus változásokra

Tekintettel arra, hogy a klinikumban az AAPD kezelés hosszan, akár egész életen át tart, a BGP-15 metabolikus védőhatását először atípusos antipszichotikummal (klozapinnal) krónikusan kezelt patkányokon vizsgáltuk.

### 7.2.2.1 BGP-15 hatása a krónikus klozapin kezelés következtében kialakult inzulin rezisztenciára

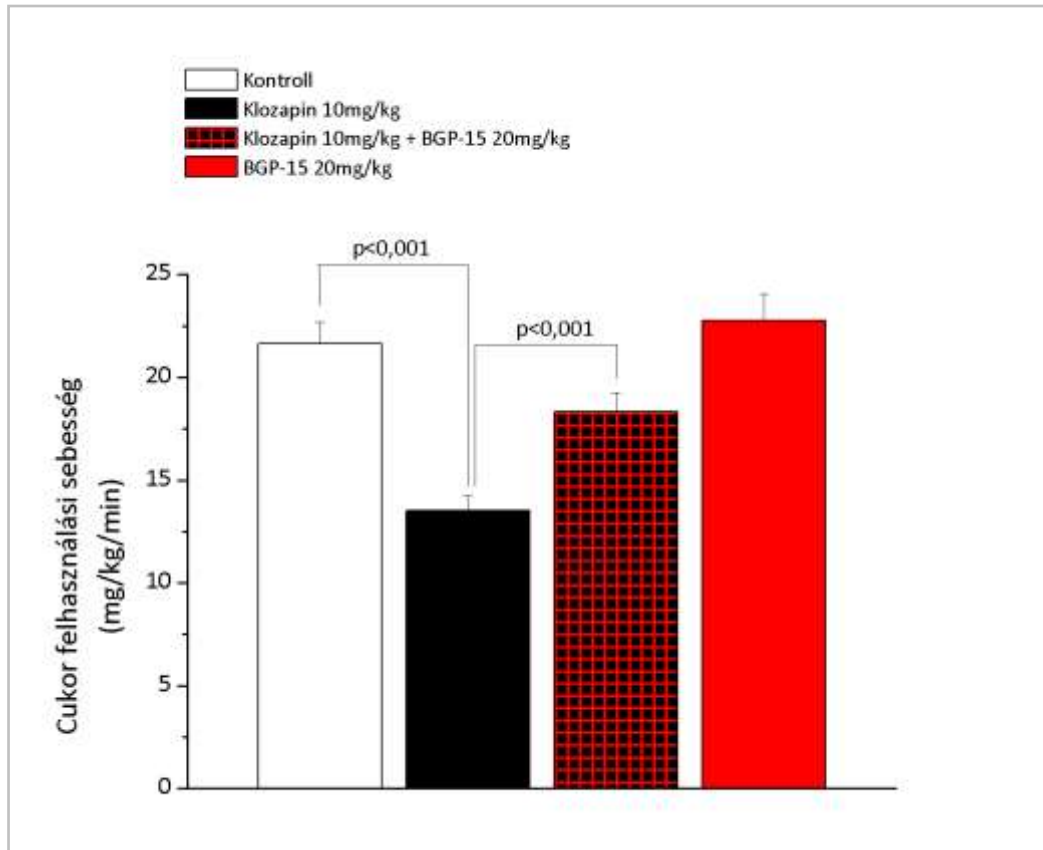
A BGP-15 hatását vizsgáltuk a krónikus klozapin kezelés következtében már manifesztálódott elhízás és inzulin rezisztencia befolyásolására.

A vizsgálat során egészséges patkányokat 1 hónapig klozapinnal előkezeltünk. Korábbi vizsgálatok tanulsága szerint az így inzulin rezisztenssé vált patkányokban, a klozapin kezelés fenntartása mellett vizsgáltuk a BGP-15 hatását az inzulin érzékenységre. A kezelési csoportokat és menetrendet a 2. táblázat foglalja össze.

**2. táblázat: Kontroll, klozapin és BGP-15 kezelések menetrendje**

Kezelési csoportok	Kezelés 1. hónapja	Kezelés 2. hónapja
<b>Kontroll</b> (N=6)	Fiziológiás sóoldat	
<b>Klozapin 10mg/kg</b> (N=6)	Klozapin	
<b>Klozapin 10mg/kg + BGP-15 20mg/kg</b> (N=6)	Klozapin	Klozapin + BGP-15
<b>BGP-15 20mg/kg</b> (N=6)	Fiziológiás sóoldat	BGP-15

Ahogy feltételeztük, egészséges állatokon két hónapos 10mg/kg dózisban alkalmazott klozapin kezelés jelentősen csökkentette az inzulin érzékenységet (37%). A már kialakult inzulin rezisztencia állapotában elkezdett és egy hónapig folytatott 20mg/kg BGP-15 kezelés azonban a fenntartott klozapin kezelés mellett statisztikailag szignifikáns mértékben, 60%-al javította az inzulin érzékenységet. A BGP-15 kezelés önmagában nem volt hatással az inzulin érzékenységre (16. ábra).



**16. ábra: BGP-15 kezelés hatása krónikus klozapin kezelés által indukált inzulin rezisztenciára patkányon.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlop diagrammok az adott kezelési csoport glukóz infúziós sebességének átlagát  $\pm$  s.e mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt.

Tehát megállapítottuk, hogy a BGP-15 adagolás jelentősen javította a krónikus klozapin kezelésre bekövetkező inzulin rezisztenciát.

#### 7.2.2.2 BGP-15 hatásának vizsgálata a klozapin által okozott testsúlynövekedésre

Miután a krónikus klozapin kezelés metabolikus mellékhatásai közül az inzulin rezisztencia BGP-15 kezeléssel javítható volt, megvizsgáltuk a BGP-15 hatását a klozapinnal kiváltott testsúlyfokozódásra. Korábbi megfigyeléseink szerint a 10mg/kg-os klozapin dózis az állatokban már jelentős aluszékonyságot okozott, így kevesebbet ettek, melynek következtében kevesebbet híztak. Ennek megfelelően ebben a kísérletben a klozapin dózist a tizedére csökkentettük az előző kísérletekhez képest.

Az állatokat 3 csoportra osztottuk, mindegyikbe 8 állat került. A 35 napos kezelés során a testsúlymérése hetente történt.

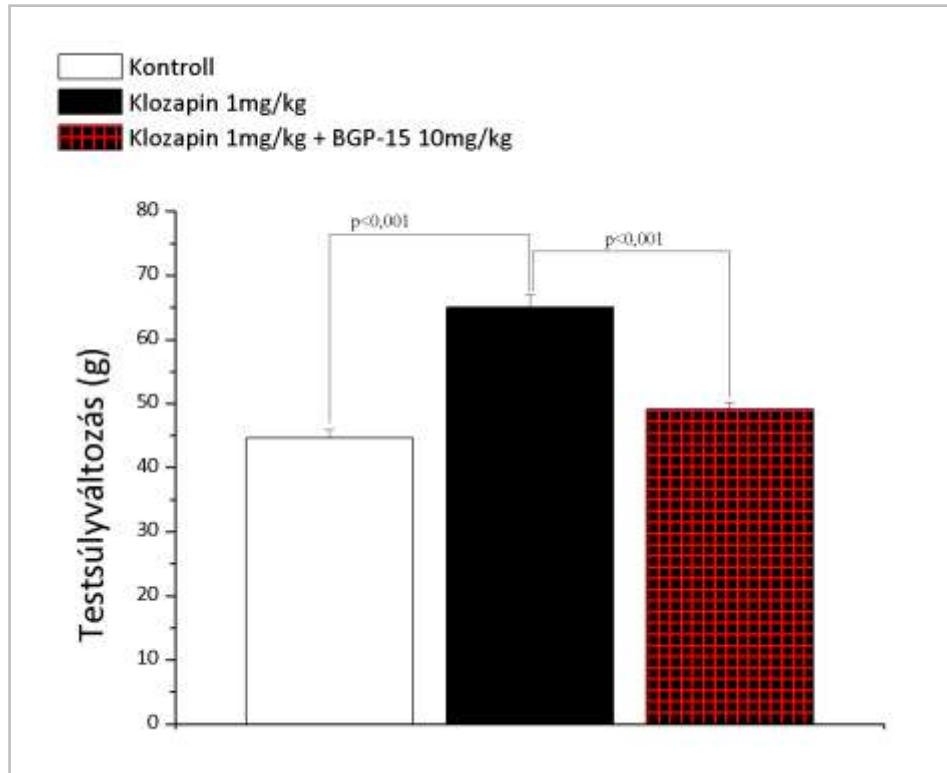
Kezelési csoportok:

1. Kontroll - fiziológias sóoldatot kapott
2. Klozapin 1mg/kg
3. Klozapin 1mg/kg + BGP-15 10mg/kg

A 35 napig tartó 1mg/kg klozapin kezelés hatására a testsúly szignifikánsan nőtt, a klozapinnal kezelt patkányok ezen időszak alatt több mint 20 grammal többet híztak, mint a kontroll állatok. Az egyidejűleg alkalmazott BGP-15 kezelés kivédte a klozapin testsúlynövelő hatását.

A statisztikai elemzést Bonferroni poszthoc teszttel kísért ANOVA vizsgálattal végeztük. Statisztikailag szignifikáns különbséget a klozapin vs. kontroll; és a klozapin vs klozapin + BGP-15 kombinációval kezelt patkányok testsúlyváltozásában találtunk.

A klozapin + BGP-15 kombinációval kezelt patkányok testsúlya a kontroll csoport testsúlyával azonos mértékben változott. A klozapinnal kezelt állatok szignifikánsan többet híztak, mint a kontroll, és mint a klozapin + BGP-15 kombinációs csoport (17. ábra).



**17. ábra: 35 napig tartó klozapin; klozapin + BGP-15 kombináció kezelés hatása a testsúlynövekedésre patkányban.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlop diagrammok a testsúlynövekedés átlagát mutatják  $\pm$  s.e. Használt statisztikai módszerek: egyszempontos ANOVA analízis Bonferroni post hoc teszttel. A különbség statisztikailag szignifikáns, ha  $p < 0,05$ .

Tehát a BGP-15 kivédte az 1mg/kg dózisban adott krónikus klozapin kezelés testsúlynövelő hatását.

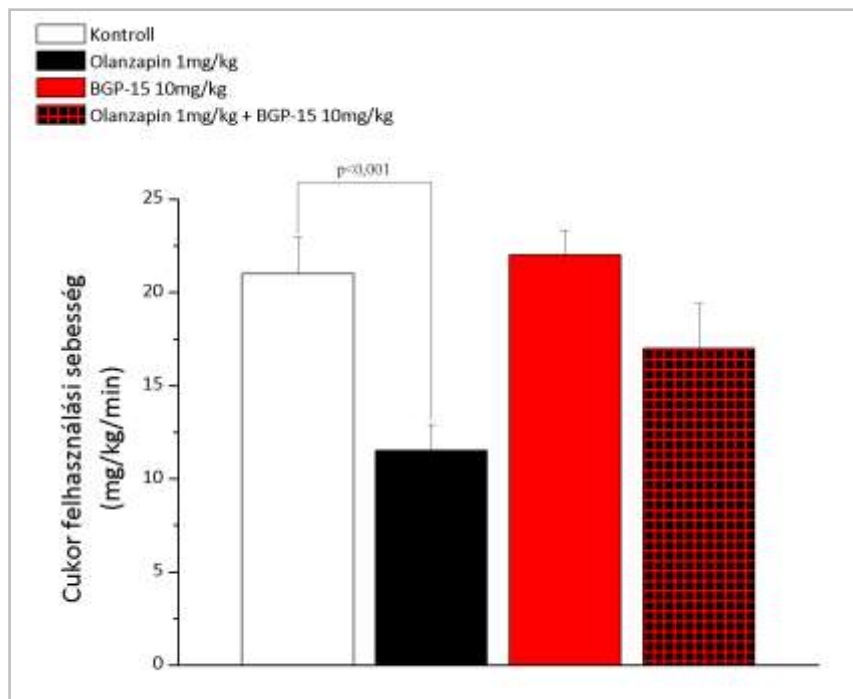
### 7.2.3 BGP-15 hatásának vizsgálata akut olanzapin kezelés által okozott metabolikus változásokra

Az irodalomban található adatok szerint már egy rövid atípusos antipszichotikum kezelés is inzulin rezisztenciát okoz (Houseknecht és mtsai 2007; Ader és mtsai 2005). Kíváncsiak voltunk, hogy ezt az akut AAPD kezelés által okozott metabolikus mellékhatást a BGP-15 képes-e kivédeni. Ennek tanulmányozására egészséges patkányokat kezeltünk 1mg/kg dózis olanzapinnal 5 napon keresztül. Az állatokat 4 csoportra osztottuk, mindegyik csoportba 6 állat került.

Kezelési csoportok:

1. Kontroll - fiziológias sóoldatot kapott
2. Olanzapin 1mg/kg
3. BGP-15 10mg/kg
4. Olanzapin 1mg/kg + BGP-15 10mg/kg

Az 5 napig tartó kezelést követően az inzulin érzékenységet a 6. napon HEGC módszerrel határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy az akut olanzapin kezelés az irodalmi adatoknak megfelelően statisztikailag szignifikáns inzulin érzékenység csökkenést okozott. Ezt az inzulin rezisztenciát a BGP-15 kezelés jelentősen mérsékelte. Az előző kísérletekhez hasonlóan a BGP-15 kezelés önmagában nem befolyásolta az egészséges állatok inzulin érzékenységét (18. ábra).



**18. ábra: BGP-15 védőhatása az 5 napos olanzapin kezelés által okozott inzulin érzékenység csökkenésére.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlop diagrammok az adott kezelési csoport glukóz infúziós sebességének átlagát  $\pm$  s.d mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt

#### **7.2.4 A BGP-15 protektív hatásának összehasonlítása a klinikumban használt más antidiabetikumokkal krónikus olanzapin kezeléssel kiváltott metabolikus változásokra**

Összehasonlítottuk a klinikumban leggyakrabban használt antidiabetikumok – metformin, roziglitazon - és a BGP-15 hatását az olanzapin által egészséges patkányokon provokált inzulin rezisztenciára.

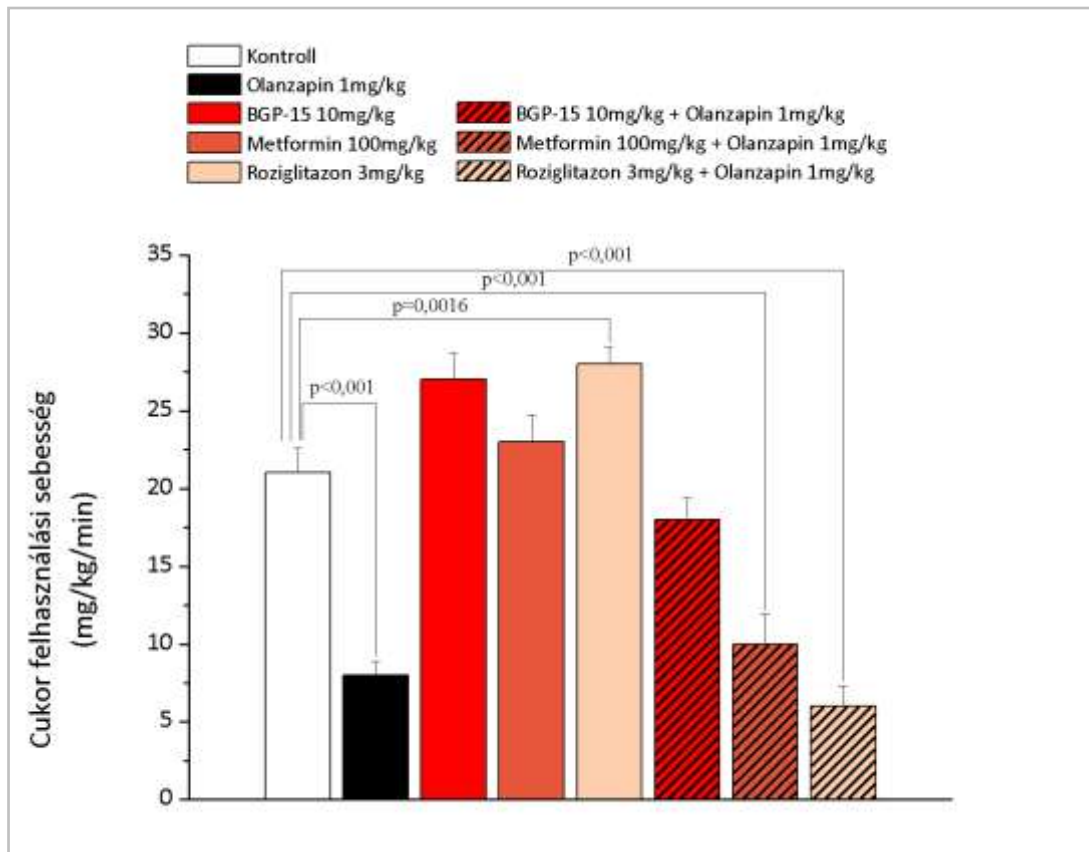
Az állatokat 8 csoportra osztottuk, mindegyikbe 6 állat került. A 28 napos kezelés során a testsúly mérése hetente történt, az inzulin érzékenységet ebben a kísérletben is HEGC módszerrel határoztuk meg éjszakai éhezést követően, a 29. napon.

##### Kezelési csoportok:

1. Kontroll - fizioiógias sóoldatot kapott
2. Olanzapin 1mg/kg
3. BGP-15 10mg/kg
4. Metformin 100mg/kg
5. Roziglitazon 3mg/kg
6. Olanzapin 1mg/kg + BGP-15 10mg/kg
7. Olanzapin 1mg/kg + Metformin 100mg/kg
8. Olanzapin 1mg/kg + Roziglitazon 3mg/kg

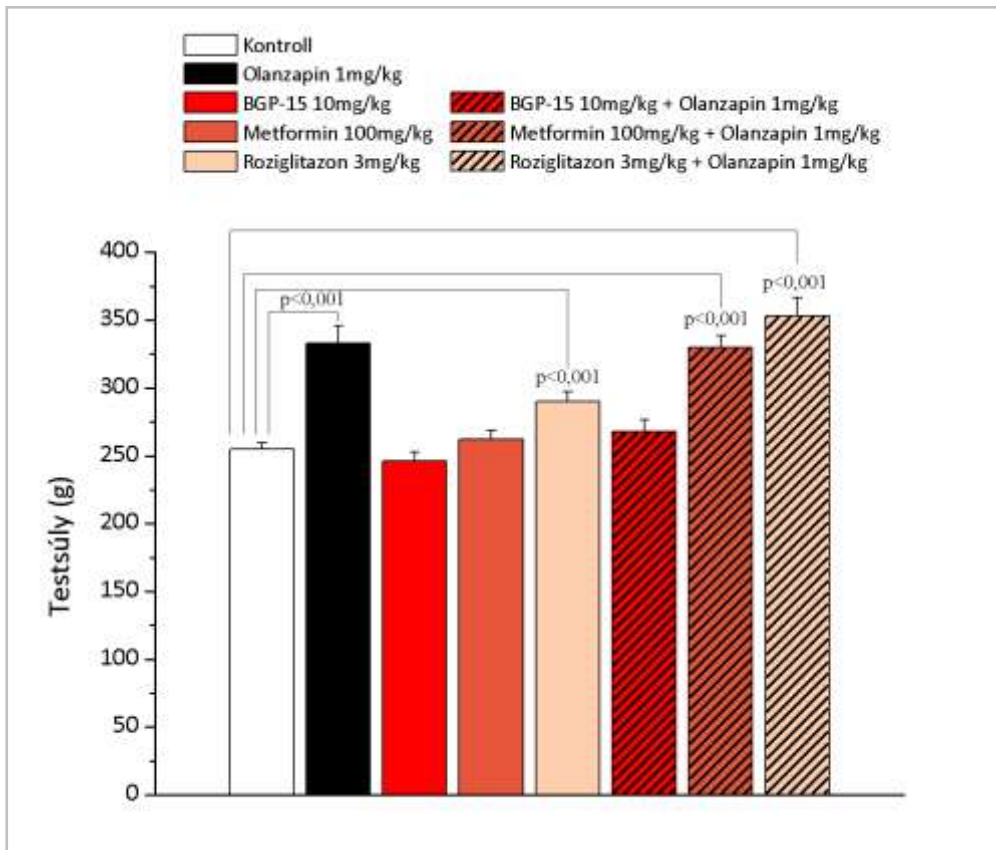
A 28 napos olanzapin kezelés szignifikánsan csökkentette az inzulin érzékenységet, az inzulin által kiváltott glukóz felhasználás 62%-al csökkent. Egészséges állatokban önmagában sem a BGP-15, sem a metformin nem befolyásolta az inzulin érzékenységet, míg a roziglitazon kezelés kis mértékben, de szignifikáns módon fokozta a cukor felhasználást a kontroll csoporthoz képest. Olanzapinnal kombinálva, csak a BGP-15 kezelés védte ki az atípusos antipszichotikum által provokált csökkent inzulin érzékenységet, míg a klinikumban használt antidiabetikumok a vizsgált dózisokban nem (19. ábra).





**19. ábra: BGP-15 hatása a 28 napos olanzapin kezelés által provokált inzulin rezisztenciára egészséges patkányon, az inzulinérzékenyítő hatás összehasonlítása a klinikumban használt antidiabetikumokkal.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlopok a glukóz infúzió sebesség átlagát  $\pm$  s.e. mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt. A különbség statisztikailag szignifikáns, ha  $p < 0,05$ .

Az olanzapin kezelés a várakozásnak megfelelően szignifikáns testsúlynövekedést eredményezett (20. ábra), a BGP-15, metformin önmagában nem befolyásolta, míg a roziglitazon már önmagában is szignifikánsan fokozta a testsúlygyarapodás mértékét, ennek alapján nem volt meglepő, hogy olanzapinnal kombinációban a roziglitazon nem tudta kivédeni annak testsúlynövekedésre gyakorolt hatását.



**20. ábra: BGP-15 hatása a 28 napos olanzapin kezelés által kiváltott testsúlynövekedésre egészséges patkányon, a hatás összehasonlítása a klinikumban használt antidiabetikumokkal.** A kezelések a módszereknél leírt módon történtek. Az oszlopok a testsúlynövekedés átlagát  $\pm$  s.e. mutatják. ANOVA, Bonferroni post hoc teszt. A különbség statisztikailag szignifikáns, ha  $p < 0,05$ .

A metformin kezelés nem gátolta meg az olanzapin testsúlynövelő hatását. A vizsgált kombinációkban egyedül a BGP-15 gátolta jelentősen és statisztikailag szignifikáns módon az olanzapin testsúlynövelő hatását.

## 7.2.5 BGP-15 és rimonabant metabolikus hatásainak együttes vizsgálata

### 7.2.5.1 BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatásának vizsgálata

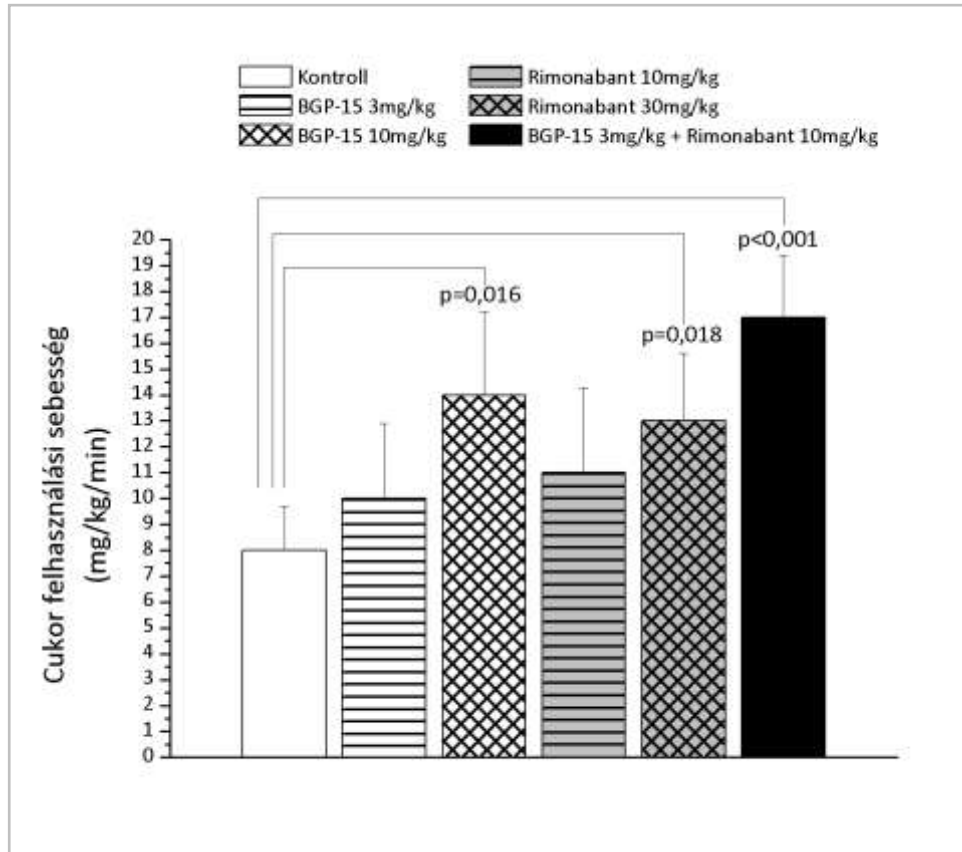
A fenti adataink mutatják, hogy a forgalomban lévő antidiabetikumok a vizsgált dózisokban nem tudták kivédeni az atípusos antipszichotikumok metabolikus mellékhatásait. A következő kísérlet sorozatban megvizsgáltuk, hogy csökkentett dózisu rimonabant (mely dózisinál elképzelhetően nem mutatkoznak a szer súlyos pszichiátriai mellékhatásai) BGP-15-el kombinálva javítja-e az inzulin érzékenységet túlsúlyos, inzulin rezisztens állapotban. Ezeket a kísérleteket a túlsúly genetikai modelljén Zucker obez patkányokon végeztük. Az állatokat 6 csoportra osztottuk, mindegyik csoportba 4 állat került.

#### Kezelési csoportok:

1. Kontroll – fiziológiás sóoldatot kapott
2. Rimonabant 10mg/kg
3. Rimonabant 30mg/kg
4. BGP-15 3mg/kg b.i.d.
5. BGP-15 10mg/kg b.i.d.
6. Rimonabant 10mg/kg + BGP-15 3mg/kg b.i.d.

Az 5 napig tartó kezelést követően az inzulin érzékenységet HEGC módszerrel határoztuk meg a hatodik napon.

Ebben a modell rendszerben mindkét szer önállóan csak magasabb dózisban javította szignifikánsan az inzulin érzékenységet: 30mg/kg dózis rimonabant 65,2%-al, 10mg/kg BGP-15 pedig 75%-al javította az inzulin érzékenységet a kontroll csoporthoz képest (21. ábra). Kombinációban mind a BGP-15, mind a rimonabant dózisát harmadára csökkentettük. Ez a csökkentett dózisu BGP-15 – rimonabant kombináció jelentősebb inzulinérzékenyítő hatással rendelkezik, mint a két szer nagyobb dózisban önállóan.



**21. ábra: BGP-15 és rimonabant hatása az inzulin érzékenységre Zucker obese patkányokon. Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt.** Az oszlopok a glukóz infúzió sebesség átlagát  $\pm$  s.d. mutatják. Használt statisztikai módszerek: ANOVA, Bonferroni post hoc teszt. A különbség statisztikailag szignifikáns, ha  $p < 0,05$ .

Eredményeink azt mutatják, hogy a BGP-15 és a rimonabant szinergisztikus inzulinérzékenyítő hatással rendelkezik.

#### 7.2.5.2 BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatás mechanizmusában a kapszaicin szignál szerepének vizsgálata

A továbbiakban megvizsgáltuk a szisztémás kapszaicin kezelés inzulinérzékenyítő hatását, valamint szerepét a BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatásában Zucker obese patkányokon.

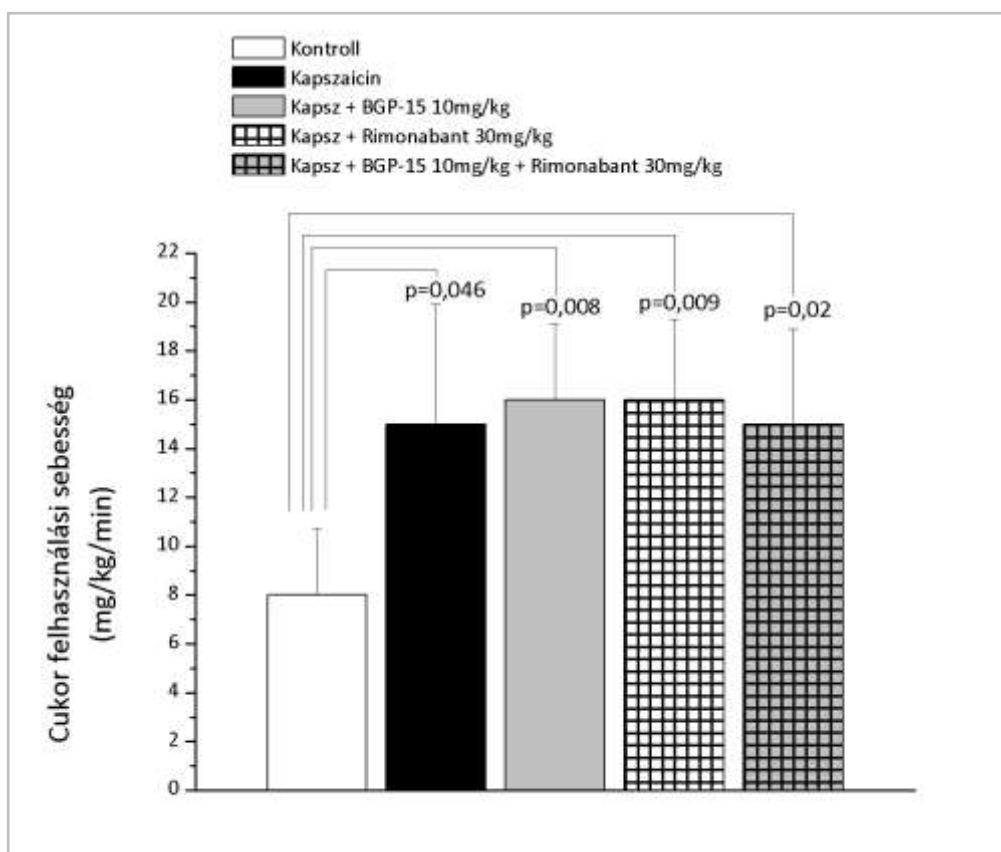
A 3 napos szisztémás kapszaicin előkezelést követő 7 nap regeneráció után az állatokat négy csoportra osztottuk, mindegyik csoportba 6 állat került. A negatív kontroll csoportot szubkután fiziológiás sóoldattal kezeltük.

Kezelési csoportok:

1. Negatív kontroll – fiziológiás sóoldat
2. Pozitív kontroll – kapszaicin + fiz. só
3. Kapszaicin + Rimonabant 30mg/kg
4. Kapszaicin + BGP-15 10mg/kg
5. Kapszaicin + Rimonabant 30mg/kg + BGP-15 10mg/kg

A kezelések 5 napon keresztül történtek, az inzulin érzékenységet HEGC módszerrel határoztuk meg a hatodik napon.

A szisztémás kapszaicin kezelés már önmagában szignifikáns módon javította az inzulin érzékenységet, a csak fiziológiás sóoldat kezelésben részesült negatív kontroll csoporthoz képest a kapszaicin előkezelés 85%-kal fokozta a cukor felhasználási sebességet (22. ábra).



**22. ábra: BGP-15 és rimonabant inzulinérzékenyítő hatása szisztémás kapszaicinnel előkezelt Zucker obese patkányokon.** Az állatok kezelése a módszereknél leírt módon történt. Az oszlopok a glukóz infúzió sebesség átlagát  $\pm$  s.d. mutatják. Használt statisztikai módszerek:

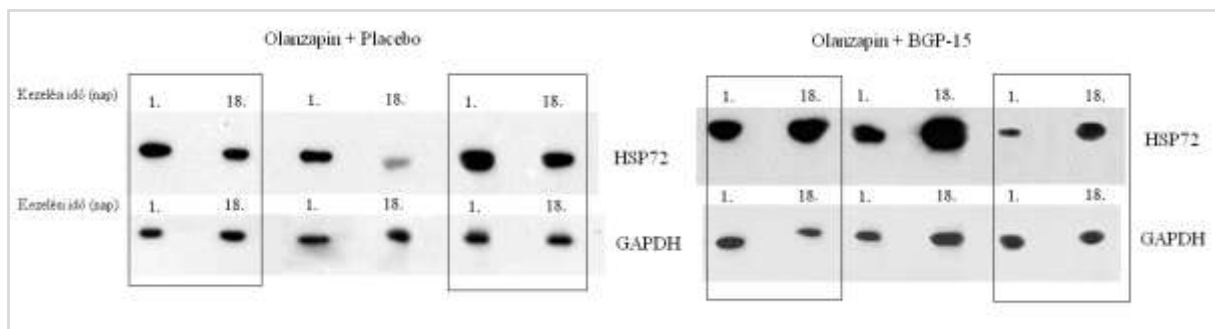
ANOVA, Bonferroni post hoc teszt. A különbség statisztikailag szignifikáns, ha  $p < 0,05$ .  
Rövidítések: Kapsz – kapszaicin

Megfigyeléseink szerint a kapszaicin inzulinérzékenyítő hatását statisztikailag szignifikáns mértékben sem a BGP-15, sem a rimonabant, sem a két szer kombinációja nem fokozta tovább (22. ábra).

### 7.3 HUMÁN KLINIKAI FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK RÉSZEKÉNT VÉGZETT *EX VIVO* VIZSGÁLATOK

#### 7.3.1 Olanzapin és olanzapin + BGP-15 kezelés hatásának összehasonlítása a HSP72 expresszióra egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejtjeiben

A BGP-15 HSP72 indukáló hatása, és ennek oki összefüggése az inzulinérzékenyítéssel, mint az Irodalmi áttekintésben összefoglaltam, ismert volt számunkra. Az antipszichotikumok metabolikus mellékhatásával szembeni BGP-15 védőhatás kapcsán természetesen vetődött fel a kérdés, hogy a hatás ebben az esetben is kapcsolódik-e a HSP-72 indukcióhoz. Az olanzapin és a BGP-15 metabolikus hatásait vizsgáló humán fázis I klinikai vizsgálat során a vizsgálatban résztvevő egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejtjeiben a HSP72 szintet a kezelés előtt és végén mértük. A vizsgálatot azért végeztük vérsejteken, mert invazív beavatkozás nélkül csak ez a sejt volt vizsgálható. A klinikai vizsgálat során vérvétel az első és a 18. napon történt, melyből a HSP72 fehérje expressziót Western Blot módszerrel határoztuk meg (23. ábra). A klinikai vizsgálat engedélyszáma: 10568/82/2007, és etikai engedélyszáma: 109/IKEB/2007.



**23. ábra: HSP72 szint változása fázis I klinikai vizsgálatban résztvevő egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejtjeiben.** Reprezentatív Western Blot.

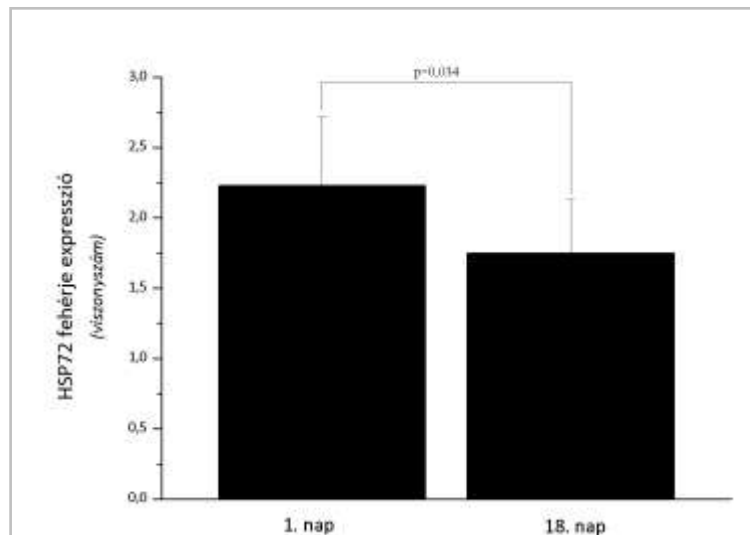
Az olanzapin + placebóval kezelt önkéntesek mononukleáris sejtjeiben a klinikai vizsgálat 18. napján a HSP72 szint statisztikailag szignifikánsan ( $p=0,034$ ) alacsonyabb volt, mint a 1. napon (3. táblázat).

**3. táblázat: Olanzapin hatása egészséges önkéntesek HSP72 expressziójára perifériás magvas vérsejtekben.**

	Minta szám	HSP72 expresszió (GAPDH-ra normalizált) átlaga	s. e.
0. nap	19	2,23	0,486
<b>18. nap</b>	19	1,75 *	0,380

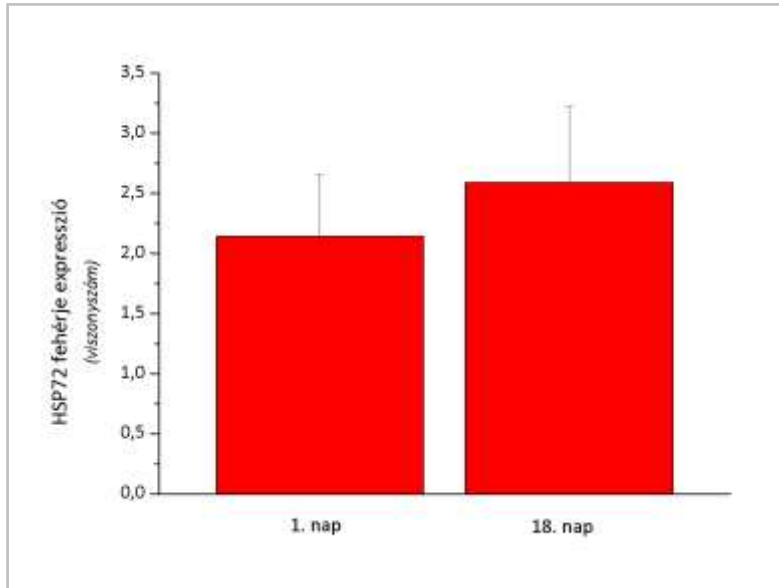
\*Statisztikailag szignifikáns különbség. Használt statisztikai módszer: párosított T-próba;  $p=0,034$ .

17 napos olanzapin kezelés egészséges önkéntesek perifériás mononukleáris vérsejtjeiben 21,5%-os HSP72 fehérje szint csökkenést eredményezett (24. ábra).



**24. ábra: HSP72 fehérje szint olanzapin (10mg) + placebo kezelésben részesült egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejtjeiben.** A perifériás magvas vérsejtek szeparációja és vizsgálata a módszereknél leírt módon történt. Az oszlopok a HSP72 fehérje szint átlagát  $\pm$  s.e. mutatják. Használt statisztikai módszer: párosított T-próba;  $p=0,034$ .

A HSP72 fehérje szint a klinikai vizsgálat során az olanzapin 10mg + BGP-15 400mg kombinációs kezelés hatására nem változott ( $p=0,220$ ) (25. ábra).



**25. ábra: HSP72 fehérje szint változása olanzapin 10mg + BGP-15 400mg kombinációval kezelt egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejtjeiben.** A perifériás magvas vérsejtek szeparációja és vizsgálata a módszereknél leírt módon történt. Az oszlopok a HSP72 fehérje szint átlagát  $\pm$  s.e. mutatják. Használt statisztikai módszer: párosított T-Próba ( $p=0,220$ ).

A csoportokon belüli HSP72 fehérje szint változás után összehasonlítottuk a két különböző kezelésben (10mg olanzapin + placebo vs. 10mg olanzapin + 400mg BGP-15) részesült egészséges önkéntesek HSP72 fehérje expresszió változását a perifériás magvas vérsejtekben (4. táblázat).

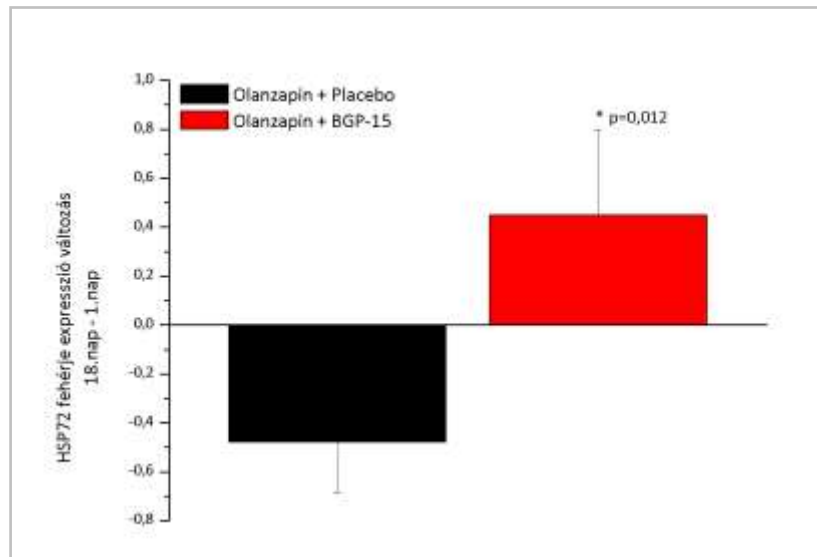
**4. táblázat: Humán fázis I klinikai vizsgálatban részt vevő egészséges önkéntesek HSP72 fehérje szint változásának összehasonlítása.**

Kezelési csoportok	Minta szám	HSP72 expresszió változás átlaga (18. nap – 0. nap)	s.e.
Olanzapin 10mg + Placebo	19	-0,478	0,21
Olanzapin 10mg + BGP-15 400mg	18	0,449 *	0,35

A perifériás magvas vérsejtek szeparációja és vizsgálata a módszereknél leírt módon történt. A használt statisztikai módszer: Mann-Whitney teszt ( $p= 0,026$ ). \*Statisztikailag szignifikáns különbség.



A két csoport között szignifikáns különbséget találtunk. Megállapítható, hogy a BGP-15 kezelés kivédi az olanzapin terápia hatására bekövetkező HSP72 fehérje szint csökkenést egészséges önkéntesek magas vérsejtjeiben (26. ábra).



**26. ábra: Humán fázis I klinikai vizsgálatban részt vevő egészséges önkéntesek HSP72 fehérje szint változásának összehasonlítása.** A perifériás magas vérsejtek szeparációja és vizsgálata a módszereknél leírt módon történt. Az oszlopok a HSP72 szint változás átlagát  $\pm$  s.e. mutatják. A használt statisztikai módszer: Mann-Whitney teszt ( $p = 0,026$ ).

A munkacsoport által mért adatok szerint az olanzapin + placebo kezelésben részesülő egészséges önkéntesek (kontroll csoport) inzulin érzékenysége szignifikánsan csökkent, mely inzulin érzékenység csökkenés jelentősen kisebb mértékű volt az olanzapin + BGP-15 kombinációval kezelt csoportban. A testsúly mindkét kezelési csoportban szignifikánsan fokozódott. A leptin és adiponektin szérumszintje statisztikailag szignifikáns mértékben nem változott egyik csoportban sem (Literáti-Nagy és mtsai 2010).

## 8 MEGBESZÉLÉS

Kísérleteinkben célul tűztük ki, hogy különböző experimentális modelleken, sejt kultúrán és állatkísérletekben bizonyítjuk azt, hogy az atípusos antipszichotikumok ismert metabolikus mellékhatásai BGP-15-el, az általunk vizsgált HA származékkal jelentősen mérsékelhetők.

Az értekezésben vizsgált modellrendszerekben, mind 3T3-L1 adipocitákban klozapinnal (12-13 ábra), mind egészséges állatokon, krónikus klozapin- (16-17. ábra) és akut olanzapin- (18. ábra) kezeléssel sikeresen beállítottuk a metabolikus károsodások különböző rendszereit. Ezekben a sejtes és állatkísérletes rendszerekben a BGP-15 védett az atípusos antipszichotikumok metabolikus mellékhatásai ellen.

A hidroxilamin származékok eddig közölt biológiai hatásait a vizsgált rendszerek olyan állapotaiban figyelték meg, ahol előzőleg valamilyen károsító hatás patológiás állapotot idézett elő. A HA származékok stresszválaszt (HSR) elősegítő és számos HSP expresszióját fokozó hatását ismerjük (Vigh és mtsai 1997). A HSR az egyik legjobban ismert sejt védő mechanizmus, amelynek része a fokozott HSP szintézis. Gupte és munkatársainak megfigyelése, hogy az alfa liponsav, amely fokozza a HSP szintet (Gupte 2009) csökkenti a testsúlynövekedést AAPD-vel kezelt skizofrén betegekben, a HSP és a lipid metabolizmus kapcsolatát támasztja alá és támogatja az elképzelést, hogy HSP indukcióval az APPD-k metabolikus mellékhatásai kivédhetők (Kim 2008).

A BGP-15 lipid metabolizmusra kifejtett hatását Vestri és munkatársainak módszere szerint 3T3-L1 adipocitákban vizsgáltuk. Vestri és munkatársainak megfigyelései szerint 3T3-L1 adipocitákban 10 $\mu$ M klozapin 3 órával a kezelést követően jelentősen (40%) csökkentette az inzulin által stimulált glukóz felvételt, mely csökkenés 3 napig fenn állt. Ugyancsak megfigyelték, hogy 10 $\mu$ M-os olanzapin kezelés 30%-os glukóz transzport csökkenést okozott. Megállapították, hogy bizonyos antipszichotikumok csökkentik az adrenerg szerek által kiváltott lipolízist, és erősítik az inzulin lipolízist gátló hatását is. A fokozott lipogenezis, és a csökkent lipolízis a sejten belüli lipid felhalmozódását, a zsírsejtek megnagyobbodását eredményezik (Vestri és mtsai 2007).

Eredményeink egybevágóak ezekkel a megfigyelésekkel, 3T3-L1 zsírsejtekben 13 $\mu$ M klozapin kezelés 22,4%-al fokozta a zsír akkumulációt. A klozapin lipid akkumulációt fokozó hatását a BGP-15 kezelés teljes mértékben kivédte 3T3-L1 sejtekben (12-13. ábra). Az atípusos antipszichotikumok zsírsejtekre kifejtett közvetlen hatása részben magyarázza az

AAPD-k testsúlynövelő mellékhatását. Miután a BGP-15 ezt a lipid akkumulációt csökkentette, ez magyarázza az AAPD-k testsúlynövelő hatásának mérséklését HA származékkal.

Az AAPD metabolikus mellékhatásainak csökkentésére illetve megelőzésére számos a klinikumban használt, klasszikus antidiabetikumot vizsgáltak. A metformin preventív hatásáról egymásnak ellentmondó klinikai vizsgálatokból származó eredmények találhatók az irodalomban. Wu és munkatársainak megfigyelései alapján a metformin csökkentette az AAPD testsúlynövelő hatását gyógyszer naiv, fiatal betegekben (Wu és mtsai 2008), míg Baptista és munkatársai 14 hetes klinikai vizsgálat során nem láttak jelentős preventív hatást (Baptista és mtsai 2006). A roziglitazon nem javította az inzulin érzékenységet klozapinnal kombinációban (Henderson és mtsai 2009), és nem védte ki az olanzapin által kiváltott testsúlynövekedést sem (Baptista és mtsai 2009). Klinikai vizsgálatunkban a BGP-15 statisztikailag szignifikáns módon javította az inzulin érzékenységet (Literáti és mtsai. 2009). A BGP-15 metabolikus védőhatása állatkísérletekben is jól megfigyelhető. Patkányon végzett kísérleteinkben a BGP-15 hatékonyabban gátolta az AAPD-k metabolikus mellékhatását, mint a metformin és a roziglitazon (19-20. ábra).

Az irodalomban kevés tanulmány foglalkozik a klinikumban használt antidiabetikumok és az AAPD-k rágszálókban (egér, patkány) megnyilvánuló metabolikus mellékhatásainak vizsgálatával. Arulmozhi és munkatársai 7 napig AAPD-vel kezelt egereken, a roziglitazon vércukor és triglicerid szint csökkentő, jótékony hatásairól számoltak be (Arulmozhi és mtsai 2006). Ezek a megfigyelések ellentétben állnak a klinikai eredményekkel, jól bizonyított, hogy a roziglitazon nem csökkenti a klinikumban az AAPD-k metabolikus mellékhatását. *In vivo* kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy sem a roziglitazon, sem a metformin nem javított az olanzapin által kiváltott inzulin rezisztencián és testsúlynövekedésen, sőt a roziglitazon fokozta a testsúlynövekedés mértékét. Ezzel szemben a BGP-15 szignifikánsan csökkentette az olanzapin által kiváltott inzulin rezisztenciát és testsúlynövekedést.

Eredményeink szerint a konvencionális inzulinérzékenyítők a vizsgált dózisban hatástalannak bizonyultak az AAPD-k metabolikus mellékhatásaival szemben (19-20. ábra).

Klinikai tapasztalatok szerint a krónikus riszperidon kezelést folyamatos testsúlynövekedés jellemez, plató fázis elérése nélkül (Reuvers 2005). Az irodalomban található állatkísérletekből származó eredmények egymásnak ellentmondóak. Adeneye és

munkatársainak megfigyelései szerint 0,2mg/kg riszperidonnal, szájon át kezelt Wistar patkányok testsúlyának jelentős növekedése csak a 30. naptól kezdődően következett be (Adeneye és mtsai 2011), míg Baptista és munkatársainak vizsgálata során 0,5 mg/kg szubkután adott riszepridon 12 nap alatt szignifikáns testsúlynövekedést okozott (Baptista és mtsai 2004). Eredményeink egybevágóak Baptista és munkatársainak megfigyeléseivel. Az általunk szubkután 0,005mg/kg és 0,05mg/kg dózisokban alkalmazott riszperidon kezelések 14 nap alatt jelentős testsúlynövekedést eredményeztek, mely növekedés a 21 napos vizsgálat utolsó 7 napján nem folytatódott, azaz a hízás üteme plató fázis kialakulását mutatta (1. táblázat). BGP-15 kezelés sikeresen megelőzte a riszperidon által kiváltott testsúlynövekedést mindkét dózisban (14. ábra). Az irodalmi adatokkal egyezően a krónikus riszperidon kezelés jelentős éhomi vércukorszint emelkedést eredményezett, melyet a BGP-15 kezelés hatékonyan kivédett (15. ábra).

Eredményeink azt is mutatják, hogy a BGP-15 hatékonyan csökkenti és visszafordítja, az AAPD kezelés következtében már kialakult inzulin rezisztenciát (16. ábra). Ezek az adatok felvetik annak a lehetőségét, hogy a hosszabb ideje, krónikus AAPD kezelésben részesült betegek inzulin rezisztens állapota is visszafordítható BGP-15-el, és csökkenthető a diabétesz kialakulásának kockázata.

*In vivo* vizsgálatainkban a BGP-15 hatékonyan csökkentette, mind az olanzapin, a klozapin és a riszperidon által kiváltott testsúlynövekedést. A 17 napos klinikai vizsgálatban a 10mg/kg olanzapin 2,2 kg-al növelte a kontroll csoport átlagos testsúlyát, míg az olanzapin + BGP-15 csoportban ez az érték 1,9 kg volt. A két csoport testsúlynövekedése között sem biológiailag jelentős, sem statisztikailag szignifikáns különbség nem áll fenn. Az állatkísérletben és humán vizsgálatban a testsúlynövekedésre kifejtett eltérő hatás valószínű oka, hogy a klinikai vizsgálatban a gyógyszer szedés teljesen felborította az egészséges önkéntesek normális napi rutin tevékenységét, fizikai aktivitását. A szűk mozgástérrel rendelkező kísérleti állatok esetében ez a hatás feltehetően kevésbé jelentős. További vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy az állatkísérletben megfigyelt, az AAPD-k testsúlynövelő hatását mérséklő BGP-15 aktivitás megnyilvánul-e emberben hosszabb kezelés során.

Az inzulin rezisztencia kialakulásában az IKK szerepét a perifériás mononukleáris sejtekben Arkan és munkatársai egereken vizsgálták. Eredményeik szerint a perifériás magvas vérsejtekben az IKK hiánya véd az inzulin rezisztencia kialakulásával szemben (Arkan és

mtsai 2005). Sourris és munkatársai felvetik annak lehetőségét, hogy a perifériás mononukleáris vérsejtek szerepe az inzulin rezisztencia kialakulásában, akár nagyobb lehet, mint a harántcsíkolt izom- vagy zsírszövet jelentősége (Sourris és mtsai 2009). Ez azonban nem tekinthető általánosan elfogadott irodalmi véleménynek. Leírták, hogy magas kalória tartalmú ételek oxidatív stresszt és gyulladást kiváltó elváltozásokat okoztak a szérumban és a perifériás magvas vérsejtekben, egészséges önkéntesekben. Ghanim és munkatársainak publikált eredményei mutatják, hogy a perifériás magvas vérsejtekben jelentősen fokozódik az NF- $\kappa$ B transzlokáció a sejtmagba, melynek következtében egyes citokinek, TNF $\alpha$ , IL-6, MIF transzkripciója fokozódik. Az NF- $\kappa$ B magi jelenléte jelentős összefüggést mutat a BMI-vel és az inzulin rezisztencia mértékét jellemző mutatóval a HOMA-IR-al (Ghanim és mtsai 2004). A perifériás magvas vérsejtek szerepe ezekben a folyamatokban azért is különösen fontos, mert közéjük tartoznak a monociták is, melyek zsírszövetbe migrálva gyulladási választ indukálnak (Ghanim és mtsai 2007). *Ex vivo* vizsgálatainkkal kimutattuk, hogy egészséges önkéntesek perifériás magvas vérsejteiben az olanzapin kezelés csökkenti a HSP72 szintet a (26. ábra), mely csökkenést azonban a BGP-15 kivédte. Az inzulin jelátvitel és a sejten belüli HSP szint szorosan összefügg (Hooper 2009). A BGP-15 javította az inzulin érzékenységet. A növekvő HSP72 szinttel párhuzamosan javuló inzulin érzékenység azt sugallja, hogy a HSP72 szint növelése BGP-15-el szerepet játszhat az atípusos antipszichotikumok által kiváltott anyagcserezavar kivédésében.

Számos közlés igazolja a zsírszövetben, májban, hasnyálmirigyben kialakuló endoplazmás retikulum stressz szerepét a II-es típusú diabétesz pathomechanizmusában (Mandl és mtsai 2009). Szubletális dózisu acetaminofen kezelés májkárosodást idézett elő állatkísérletekben. Ezen gyógyszerrel kiváltott hepatotoxikus modellen a kialakult májkárosodást és mitokondriális diszfunkciót a BGP-15 jelentősen csökkentette (Nagy és mtsai 2010).

A CB1 receptor antagonistá rimonabant, a BGP-15-höz hasonlóan, dózis függő módon fokozta Zucker obez patkányok inzulin érzékenységét. Korábbi tanulmányok igazolták már a rimonabant testsúly csökkentő hatását ezen a genetikai modellen, mely kísérlet során Schäfer és munkatársai 6 hónapon keresztül kezelték 10mg/kg rimonabanttal a patkányokat (Schäfer és mtsai 2008). Vizsgálatainkban ugyanekkora dózisinál mutatkozott meg a rimonabant BGP-15-el szinergens inzulinérzékenyítő hatása (21. ábra).

Nem régebben publikált adatok szerint a rimonabant gátolja az LPS által aktivált makrofágok inzulin jelátvitelt gátló hatását azáltal, hogy csökkenti a makrofágok által termelt gyulladási

citokin, a TNF $\alpha$  szintjét, így csökkenti a gyulladást (Kunos és mtsai 2011). Egyes kísérleti rendszerekben a BGP-15 csökkenti a JNK aktivitását (Chung és mtsai 2008), amely kapcsolódik a TNF $\alpha$  jelátvitelhez. A BGP-15 tehát fokozza a rimonabant inzulinérzékenyítő hatását, mely szinergisztikus hatás mechanizmusa nem ismert, azonban elképzelhető, hogy az inzulin szignált gátló gyulladásozó citokinek expressziójának csökkentése mindkét molekula metabolizmusra gyakorolt hatásmechanizmusában fontos szereppel bír.

A kapszaicin az erős paprika csípős ízét adó alkotórésze. A kapszaicin receptor, vagy másnéven tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) egy nem szelektív kation (főként kalciumion) csatorna, mely érzékel számos fizikai, kémiai ingert és fontos szereppel bír a hő és fájdalom érzékelésében. Nemrégiben nyert bizonyítást, hogy a TRPV1 az érző idegen kívül számos szövetben és szervben is megtalálható, továbbá szerteágazó biológiai hatásokkal bír, többek között részt vesz a hasnyálmirigy, az erek, a zsírszövet és a máj működésének szabályozásában. Korábbi tanulmányok kimutatták TRPV1 pozitív idegrostok kapszaicinnal történő deszenzitíválásával megelőzhető a cukor anyagcsere zavara az inzulin termelés és válasz fokozódásával Zucker obez patkányokban (Gram és mtsai 2007; Gram és mtsai 2005). Mások szerint a kapszaicin érzékeny idegek inzulin felszabadulástól független mechanizmuson keresztül fokozzák az inzulin érzékenységet (Guillot és mtsai 1996). Tekintettel arra, hogy TRPV1 pozitív rostok idegzik be az inzulinérzékeny szerveket, többek között vázizomzatot és májat, a TRPV1 az érintett szervekben valószínűsíthetően részt vesz a glukóz tolerancia szabályozásában. Az idegsejteken kívül izomsejtekben, és májsejtekben is megtalálható TRPV1 (Xin és mtsai 2005). Mindemellett Weiss és munkatársainak eredményei mutatják, hogy a hősokk válasz érzékelése és jelátvitel részben a TRPV1 függő folyamat (Weiss és mtsai 2009). A hősokk válasz aktiválódása javítja az inzulin jelátvitelt, fokozza a mitokondriális funkciót és elősegíti a testsúly csökkenést (Chung és mtsai 2008). Korábban Kang és munkatársai mutatták ki, hogy kapszaicin kezelés csökkenti az elhízás következményeként létrejött gyulladást az NF- $\kappa$ B aktivációjának gátlásán keresztül kövér egerek zsírszövetében (Kang és mtsai 2007).

A kapszaicin előkezelésben részesült állatok teljes test inzulin érzékenységében jelentős fokozódást figyeltünk meg (22. ábra), mely eredményeink egybevágóak Szilvássy és munkatársainak korábbi megfigyeléseivel, akik egészséges tengeri malacokon tapasztaltak jelentős inzulin érzékenység fokozódást átmeneti szenzoros neuropeptid veszteséssel járó szisztémás kapszaicin deszenzitizációt követően (Szilvássy és mtsai 2006). Kísérleteinkben mind a rimonabant, mind a BGP-15, mind kombinációjuk jelentősen fokozta Zucker obez patkányok inzulin érzékenységét, azonban szisztémás kapszaicin deszenzitizációt követően

mindkét szer hatástalannak bizonyult a teljes test inzulin érzékenységének fokozásában (22. ábra). Ezek az eredményeink egyrészt utalhatnak arra, hogy a kapszaicin érzékeny rostok kiemelten fontos szereppel bírnak mindkét vizsgált molekula inzulinérzékenyítő mechanizmusában, másrészt viszont jelentheti azt, hogy a kapszaicin előkezelés következtében már kialakult inzulin érzékenység fokozódás tovább fokozása gátló visszacsatolási rendszereket aktiválhat az inzulin jelátvitelben.

Összefoglalva, a súlyos mentális betegségben szenvedő betegek túlsúlyához az egészségtelen életmód, a genetikai hajlam, és az antipszichotikus gyógyszeres terápia egyaránt hozzá járul. Az AAPD bevezetése óta évente 0,7%-al nő a II-es típusú DM incidencia a pszichiátriai betegek körében (Panariello és mtsai 2010). Gyógyszeres terápia következtében kialakuló inzulin rezisztencia, II-es típusú DM, elhízás, valamint ezek következtében fokozódó szív koszorúér megbetegedés és magas vérnyomás kockázata, jelentős részben hozzájárulnak az AAPD-vel kezelt betegek 20 évvel rövidebb élettartamához (Basu és mtsai 2006).

A BGP-15 a preklinikai és klinikai vizsgálatok eredményei szerint alkalmas lehet az AAPD metabolikus mellékhatásának hatékony mérséklésére. A BGP-15 terápia előnyét fokozhatja, hogy kardiovaszkuláris védőhatással is rendelkezik (Crul és mtsai 2013; Szabados és mtsai 2000), csökkenti az iszkémia/reperfúzió által okozott szív károsodást, helyre állítja az erek válasz képességét inzulin rezisztenciában, valamint véd a pitvar fibrilláció ellen (Zhang és mtsai 2011).

A BGP-15 egy ígéretes gyógyszerjelölt az atípusos antipszichotikumok által okozott metabolikus mellékhatások megelőzésére, melynek következtében csökkenhet a diabétesz, szív- és érrendszeri megbetegedések előfordulása és javulhat a súlyos mentális betegségekben szenvedők együttműködése a gyógyszeres terápiával. A BGP-15 kombinációs alkalmazása AAPD-vel jelentősen fokozhatja a pszichiátriai betegek várható élettartamát, és javíthatja életminőségüket.

## 9 KÖVETKEZTETÉSEK

Munkánk célja egy új típusú inzulinérzékenyítő, a BGP-15 hatásának tanulmányozása atípusos antipszichotikumokkal előidézett metabolikus mellékhatások, inzulin rezisztencia és testsúly növekedés kivédésére.

A BGP-15 sejtes és állatkísérletes modellekben védte az antipszichotikumok metabolikus szindrómát előidéző mellékhatásait és összehasonlításban hatékonyabb volt más antidiabetikumoknál. Ennek alapján feltételezzük, hogy klinikai vizsgálatokban alkalmas lesz az AAPD metabolikus mellékhatásainak mérséklésére.

Humán vizsgálataink valószínűsítik, hogy a BGP-15 ismert chaperon indukciós hatása szerepet játszik a klinikai vizsgálatokban észlelt antidiabetikus hatásának mechanizmusában. Az inzulinérzékenyítő hatásában nagy valószínűséggel kulcs szerepet játszik a HSP72, melynek szintje az AAPD kezelés hatására csökken a perifériás magvas vérsejtekben, míg ezt a csökkenést a BGP-15 kivédi. Mindezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy a BGP-15 kombinációban a második generációs antipszichotikumokkal megfelelő gyógyszeres kezelést jelenthet a súlyos pszichiátriai betegségekben szenvedőknek az antipszichotikumok metabolikus mellékhatásai nélkül.



## 10 ÖSSZEFOGLALÁS

Az atípusos antipszichotikumok (AAPD) a súlyos pszichiátriai betegségek gyakran alkalmazott gyógyszerei. Az AAPD-k súlyos metabolikus mellékhatásokat, mint testsúlynövekedést, hiperlipidémiát és glukóz intoleranciát okoznak; metabolikus mellékhatásaik kezelése megoldatlan feladat. Az értekezésben a BGP-15 hidroxámsav származék, új klinikai II/b fázisban lévő cukorbetegség ellenes szer lehetőségét vizsgáltuk az AAPD-vel kiváltott metabolikus hatások kezelésében. A legfontosabb kísérletes eredmények az alábbiak:

- 3T3-L1 adipocitákon a BGP-15 kivédte az klozapin adásával előidézett lipid droplet felhalmozódást.
- A BGP-15 patkányokon kivédte klozapin, olanzapin, riszperidon által okozott inzulin rezisztenciát és testsúlynövekedést.
- A BGP-15 – szemben más antidiabetikumokkal – jelentősen gátolta az olanzapin testsúlynövelő hatását.
- BGP-15-tel kombinációban adva a rimonabant kezelés csökkentett dózisban is elegendő volt a kívánt inzulinérzékenyítő hatás eléréséhez.
- Szisztémás kapszaicin deszenzitizáció jelentősen fokozta Zucker obez patkányok inzulin érzékenységét, melyet sem a BGP-15, sem a rimonabant, sem kombinációjuk jelentősen nem fokozott tovább.
- AAPD kezelésben részesült humán fázis I vizsgálatban részvevőktől származó perifériás magvas vérsejtekben a csökkent HSP72 szintet a BGP-15 kezelés fokozta.

Eredményeink alapján a BGP-15 kezelés eredményes lehet az AAPD-k metabolikus mellékhatásainak kezelésében. Humán *ex vivo* vizsgálataink pedig alátámasztják a HSP72 szint fokozásának jelentőségét az inzulin rezisztencia csökkentésében.

## 11 SUMMARY

The atypical antipsychotic drugs (AAPD) are mainstays in the treatment of severe mental illnesses. AAPD produce serious metabolic side effects, like weight gain, hyperlipidemia, and glucose intolerance. The treatment of these metabolic side effects of AAPDs is still unsolved. In this dissertation we examined the possible preventive effect of hydroxamic acid derivative, BGP-15 a novel insulin sensitizer drug candidate, in human clinical phase II/b on metabolic effects provoked by AAPD. Our major results are the following:

- BGP-15 treatment prevented clozapine induced lipid droplet accumulation in 3T3-L1 adipocytes
- BGP-15 ameliorated clozapine-, olanzapine-, risperidone - induced insulin resistance and weight gain in rats
- BGP-15 – contrary to other antidiabetics - inhibited weight gain associated with administration of olanzapine
- The rimonabant + BGP-15 combination produced a degree of insulin sensitization at much lower doses that would have been attained by using either drug alone
- Neither rimonabant, nor BGP-15, nor their combination increased significantly insulin sensitivity in capsaicin pretreated Zucker obese rats, however, systemic capsaicin desensitization per se yields a state of increased insulin sensitivity
- BGP-15 administration reversed the drop in HSP72 protein expression in peripheral mononuclear blood cells originated from AAPD treated participants of human phase I clinical trial.

According to our results BGP-15 administration can be efficacious in the treatment of AAPD induced metabolic side effects. Our human *ex vivo* data confirm the role of increased expression of HSP72 in reducing insulin resistance.

## 12 IRODALOM JEGYZÉK

1. Adeneye AA, Agbaje EO, Olagunju JA. (2011) Metformin: an effective attenuator of risperidone-induced insulin resistance hyperglycemia and dyslipidemia in rats. *Indian J Exp Biol.* 49(5):332-8.
2. Ader M, Kim SP, Catalano KJ, Iount V, Huckling K, Richey, JM Kabir M, Bergman RN. (2005). Metabolic dysregulation with atypical antipsychotics occurs in the absence of underlying disease. A placebocontrolled study of olanzapine and risperidone in dogs. *Diabetes* 54: 862–871.
3. Akerfel M, Morimoto RI, Sistonen L (2010) Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nature Reviews, Molecular Cell Biology*; 11:545-55
4. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. (2006) Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 124(4):783-801.
5. Alexander GC, Gallagher SA, Mascola A, Moloney RM, Stafford RS (2011) Increasing off-label use of antipsychotic medications in the United States, 1995-2008. *Pharmacoeconomics Drug Saf*; 20:177-184.
6. Allison DB, Mentore JL, Heo M, Chandler LP. (1999) Antipsychotic induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am J Psychiatry.*;156(11): 1686-1696.
7. Allison DB, Casey DE. (2001) Antipsychotic-induced weight gain: a review of the literature. *J Clin Psychiatry.* 62(suppl 7):22-31
8. American Diabetes Association, American Psychiatric Association, American Association of Clinical Endocrinologists, North American Association for the Study of Obesity: Consensus Development Conference on Antipsychotic Drugs and Obesity and Diabetes. (2004) *Diabetes Care* 27:596

9. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M. (2005) IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 11:191–198.
10. Arulmozhi DK, Dwyer DS, Bodhankar SL (2006) Antipsychotic induced metabolic abnormalities: an interaction study with various PPAR modulators in mice. *Life Sci* 79(19):1865–72.
11. Azar ST, Salti I, Zantout MS, Major S (2000) Alterations in plasma transforming growth factor beta in normoalbuminuric type 1 and 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 85:4680-4682;
12. Balogh G, Horváth I, Nagy E, Hoyk Z, Benkő S, Bensaude O, Vigh L. (2005) The hyperfluidization of mammalian cell membranes acts as a signal to initiate the heat shock protein response. *FEBS J* 272: 6077–6086.
13. Balogh G, Péter M, Liebisch G, Horváth I, Török Z, Nagy E, Maslyanko A, Benko S, Schmitz G, Harwood JL, Vigh L. (2010) Lipidomics reveals membrane lipid remodelling and release of potential lipid mediators during early stress responses in a murine melanoma cell line. *Biochim Biophys Acta* 1801: 1036–1047.
14. Baptista T, de Baptista EA, Lalonde J, Plamondon J, Kin NM, Beaulieu S, Joobar R, Richard D. (2004) Comparative effects of the antipsychotics sulpiride and risperidone in female rats on energy balance, body composition, fat morphology and macronutrient selection. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 28(8):1305-11.
15. Baptista T, Martínez J, Lacruz A, Rangel N, Beaulieu S, Serrano A, Arapé Y, Martinez 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: 192
16. Baptista T, Rangel N, El Fakih Y, Uzcátegui E, Galeazzi T, Beaulieu S, Araujo de Baptista E (2009) Rosiglitazone in the assistance of metabolic control during olanzapine

administration in schizophrenia: a pilot double-blind, placebo-controlled, 12- week trial. *Pharmacopsychiatry* 42(1):14–9

17. Bárdos G, Móricz K, Jaszlits L, Rabloczky G, Tory K, Rác I, Bernáth S, Sümegi B, Farkas B, Literáti- Nagy B, Literáti-Nagy P. (2003) BGP-15, a hydroxamic acid derivative, protects against cisplatin- or taxol- induced peripheral neuropathy in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 190:9-16.
18. Basoglu Cengiz, Oner Ozgub, Gunes Cengiz, Semiz Umit B., Ates Alpay M, Algul Ayhan, Ebrinc Servet, Cetin Mesut, Ozcan Omer, Ipcioglu Osman. (2010) Plasma orexin A, ghrelin, cholecystokinin, visfatin, leptin and agouti-related protein levels during 6-week olanzapine treatment in first-episode male patients with psychosis *International Clinical Psychopharmacology: Volume 25 - Issue 3 - pp 165-171*
19. 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.*, 8:99
20. Batterham RL, Cohen MA, Ellis SM, Le Roux CW, Withers DJ, Frost GS, Ghatei MA, Bloom SR. (2003) Inhibition of food intake in obese subjects by peptide YY3-36. *N Engl J Med.*349(10):941-8.
21. Blobel GC, Schieman WP, Lodish HF. (2000) Role of transforming growth factor beta in human disease. *N Engl J Med.* 4;342(18):1350-8.
22. Blundell JE, MB. Leshem (1975) The effect of 5 hydroxytryptophan on food intake and on the anorexic action of amphetamine and fenfluramine, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 27, no. 1, pp. 31–37
23. Bonhaus DW, Weinhardt KK, Taylor M, DeSouza A, McNeeley PM, Szczepanski K, Fontana DJ, Trinh J, Rocha CL, Dawson MW, Flippin LA, Eglen RM. (1997) RS-102221: a novel high affinity and selective, 5-HT(2C) receptor antagonist. *Neuropharmacology*, vol. 36, no. 4-5, pp. 621– 629

24. Brasaemle DL, Dolios G, Shapiro L, Wang R (2004) Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem.* 5;279(45):46835-42.
25. Brennan AM, Mantzoros CS. (2006) Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology--emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2(6):318-27.
26. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. (2005) Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med* 11:183–190.
27. Cassarino DS, Halvorsen EM, Swerdlow RH, Abramova NN, Parker WD Jr, Sturgill TW, Bennett JP Jr. (2000) Interaction among mitochondria, mitogen-activated protein kinases, and nuclear factor-kappaB in cellular models of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 74(4):1384-92
28. Cazzola R, Rondanelli M, Russo-Volpe S, Ferrari E, Cestaro B. (2004) Decreased membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese female erythrocytes. *The Journal of Lipid Research*, 45, 1846-1851
29. Chung J, Nguyen AK, Henstridge DC, Holmes AG, Chan MH, Mesa JL, Lancaster GI, Southgate RJ, Bruce CR, Duffy SJ, Horvath I, Mestrlil R, Watt MJ, Hooper PL, Kingwell BA, Vigh L, Hevener A, Febbraio MA (2008) HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 1739-1744
30. Cohen T, S Sundaresh, F Levine (2012) Antipsychotics activate the TGFb pathway effector SMAD3 *Molecular Psychiatry*, 1–11
31. Crul T, Noemi Toth, Stefano Piotto, Peter Literati-Nagy, Kalman Tory, Pierre Haldimann, Bernadett Kalmar, Linda Greensmith, Zsolt Torok, Gabor Balogh, Imre Gombos, Federica Campana, Simona Concilio, Ferenc Gallyas, Gabor Nagy, Zoltan Berente, Burcin Gungor, Maria Peter, Attila Glatz, Akos Hunya, Zsuzsanna Literati-Nagy, Laszlo Vigh Jr., Femke Hoogstra-Berends, André Heeres, Irma Kuipers, Lizette Loen, Jean-Paul Seerden, Deli

- Zhang, Roelien A M Meijering, Robert H Henning, Bianca JJM Brundel, Harm H Kampinga, Laszlo Koranyi, Zoltan Szilvassy, Jozsef Mandl, Balazs Sumegi, Mark A Febbraio, Ibolya Horvath, Philip L Hooper, Laszlo Vigh (2013) Hydroximic acid derivatives: pleiotrophic HSP coinducers restoring homeostasis and robustness. *Curr. Phar. Des* Vol. 19, No. 3
32. Dugaard M, Rohde M, Jäättelä M. (2007) The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Lett.* 31;581(19):3702-10.
33. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. (1979) Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 237(3):E214-23
34. Dourish CT, PH Hutson, G Curzon, (1985) Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2- (di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Research Bulletin*, vol. 15, no. 4, pp. 377–384
35. Dube MG, Horvath TL, Kalra PS, Kalra SP. (2000) Evidence of NPY Y5 receptor involvement in food intake elicited by orexin A in sated rats. *Peptides.* 21(10):1557-60.
36. Dwyer DS, Donohoe D (2003) Induction of hyperglycemia in mice with atypical antipsychotic drugs that inhibit glucose uptake. *Pharmacol Biochem Behav* 75:255-260
37. Ebdrup BH, Knop FK, Ishøy PL, Rostrup E, Fagerlund B, Lublin H, Glenthøj B. (2012) Glucagon-like peptide-1 analogs against antipsychotic-induced weight gain: potential physiological benefits. *BMC Med.* 15;10:92.
38. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. (2008) The Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Diabetes Mellitus *Endocrine Reviews* 29(1):42–61
39. Escribá PV, González-Ros JM, Goñi FM, Kinnunen PK, Vigh L, Sánchez-Magraner L, Fernández AM, Busquets X, Horváth I, Barceló-Coblijn G. (2008) Membranes: a meeting point for lipids, proteins and therapies. *J Cell Mol Med* 12: 829–875.

40. Feinstein R., Kanety H., Papa M.Z., Lunenfeld B., Karasik A. (1993) Tumor necrosis factor- $\alpha$  suppresses insulin-induced tyrosine phosphorylation of insulin receptor and its substrates. *J. Biol. Chem.* 268:26055–26058.
41. Ferdinandy P, Csont T, Csonka C, Torok M, Dux M, Nemeth J, Horvath LI, Dux L, Szilvassy Z, Jancso G, (1997) Capsaicin-sensitive local sensory innervation is involved in pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and CGRP? *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 356, 356–363.
42. Gabai VL, Meriin AB, Mosser DD, Caron AW, Rits S, Shifrin VI, Sherman MY. (1997) Hsp70 prevents activation of stress kinases. A novel pathway of cellular thermotolerance. *J Biol Chem.* 272(29):18033-7.
43. Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. (2004) Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation.* 21;110(12):1564-71
44. Ghanim H, Aljada A, Daoud N, Deopurkar R, Chaudhuri A, Dandona P. (2007) Role of inflammatory mediators in the suppression of insulin receptor phosphorylation in circulating mononuclear cells of obese subjects. *Diabetologia.* 50(2):278-85.
45. Giri S, Rattan R, Haq E, Khan M, Yasmin R, Won JS, Key L, Singh AK, Singh I. (2006) AICAR inhibits adipocyte differentiation in 3T3L1 and restores metabolic alterations in diet-induced obesity mice model. *Nutrition & Metabolism*, 3:31
46. Gombos I, Crul T, Piotto S, Gungör B, Török Z, Balogh G, Péter M, Slotte JP, Campana F, Pilbat AM, 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
47. Gram DX, Hansen AJ, Deacon CF, Brand CL, Ribel U, Wilken M, Carr RD, Svendsen O, Ahrén B. (2005) Sensory nerve desensitization by resiniferatoxin improves glucose tolerance



and increases insulin secretion in Zucker Diabetic Fatty rats and is associated with reduced plasma activity of dipeptidyl peptidase IV. *Eur J Pharmacol.* 21;509(2-3):211-7

48. Gram DX, Ahrén B, Nagy I, Olsen UB, Brand CL, Sundler F, Tabanera R, Svendsen O, Carr RD, Santha P, Wierup N, Hansen AJ. (2007) Capsaicin-sensitive sensory fibers in the islets of Langerhans contribute to defective insulin secretion in Zucker diabetic rat, an animal model for some aspects of human type 2 diabetes. *Eur J Neurosci.* 25(1):213-23
49. Guillot E, Coste A, Angel I. (1996) Involvement of capsaicin-sensitive nerves in the regulation of glucose tolerance in diabetic rats. *Life Sci.* 59(12):969-77
50. Gupte AA, Bomhoff GL, Swerdlow RH, Geiger PC. (2009) Heat treatment improves glucose tolerance and prevents skeletal muscle insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Diabetes* 58: 567-78.
51. Hagg S, Joelsson I, Mjorndal T. (1998) Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in patients treated with clozapine compared with patients treated with conventional depot neuroleptic medications. *J Clin Psychiatry.*;59(6):294-299
52. Hardie DG (2007) AMP-activated protein kinase as a drug target. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*47:185-210.
53. Hardie DG, Hawley SA, Scott JW (2006) AMP-activated protein kinase--development of the energy sensor concept *J Physiol.* 1;574 (Pt 1):7-15.
54. Harper ME, Bevilacqua L, Hagopian K, Weindruch R, Ramsey JJ. (2004) Ageing, oxidative stress, and mitochondrial uncoupling. *Acta Physiol Scand.* 182:321–331
55. Hartl FU (1996) Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 381(6583):571-9.
56. Hay-Schmidt A, Helboe L, Larsen PJ. (2001) Leptin receptor immunoreactivity is present in ascending serotonergic and catecholaminergic neurons of the rat. *Neuroendocrinology*, vol. 73, no. 4, pp. 215–226.

57. Hayashi A, Suzuki M, Sasamata M, Miyata K. (2005) Agonist diversity in 5-HT<sub>2C</sub> receptor-mediated weight control in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 178(2-3):241-9
58. Henderson DC, Cagliero E, Copeland PM, Louie PM, Borba CP, Fan X, Freudenreich O, Goff DC. (2007) Elevated hemoglobin A1c as a possible indicator of diabetes mellitus and diabetic ketoacidosis in schizophrenia patients receiving atypical antipsychotics. *Journal of Clinical Psychiatry*, vol. 68, no. 4, pp. 533–541
59. Henderson DC, Fan X, Sharma B, Copeland PM, Borba CP, Boxill R, Freudenreich O, Cather C, Eden Evins A, Goff DC (2009) A double-blind, placebo-controlled trial of rosiglitazone for clozapine-induced glucose metabolism impairment in patients with schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand* 119(6):457–65
60. Henstridge DC, Forbes JM, Penfold SA, Formosa MF, Dougherty S, Gasser A, de Courten MP, Cooper ME, Kingwell BA, de Courten B. (2010) The relationship between heat shock protein 72 expression in skeletal muscle and insulin sensitivity is dependent on adiposity. *Metabolism* 59: 1556-61
61. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS. (2002) A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature* 420:333–336.
62. Hooper PL. (1999) Hot-tub therapy for type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.*, 341(12):924-5.
63. Hooper PL, Hooper JJ (2005) Loss of defense against stress: Diabetes and heat shock proteins. *Diabetes Technology and Therapeutics* 7:204-8
64. Hooper PL (2009) Inflammation, Heat Shock proteins, and type 2 diabetes. *Cell Stress Chaperones* 14:113-115
65. Horváth I, Multhoff G, Sonnleitner A, Vigh L (2008) Membrane-associated stress proteins: more than simply chaperones. *Biochim Biophys Acta* 1778: 1653–1664.

66. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM (1993) Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 259:87–91.
67. Hotamisligil GS (2006) Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444:860– 867.
68. Houseknecht KL, Robertson AS, Zavadoski W, Gibbs EM, Johnson DE, Rollema H. (2007) Acute effects of atypical antipsychotics on whole-body insulin resistance in rats: implications for adverse metabolic effects. *Neuropsychopharmacology*32(2):289-97
69. Inui A, Asakawa A, Bowers CY, Mantovani G, Laviano A, Meguid MM, Fujimiya M (2004) Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *FASEB J*. 18(3):439-56
70. Isaac MB, Isaac MT. (2005) Effect of olanzapine on body composition and energy expenditure in adults with first-episode psychosis. *Am J Psychiatry*. 162(9):1764-5
71. Jin H, Meyer JM, Mudaliar S, Jeste DV. (2008) Impact of atypical antipsychotic therapy on leptin, ghrelin, and adiponectin. *Schizophr Res*. 100(1-3):70-85.
72. Jin H, Meyer JM, Jeste DV. (2004) Atypical antipsychotics and glucose dysregulation: a systematic review. *Schizophr Res*.71(2-3):195-212.
73. Kang JH, Kim CS, Han IS, Kawada T, Yu R. (2007) Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett*. 581(23):4389-96
74. Kaufman RJ (2002) Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest* 110: 1389–1398
75. Kim JA, Wei Y, Sowers JR. (2008) Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance. *Circ Res*. 29;102(4):401-14.

76. Kinon BJ, Basson BR, Gilmore JA, Tollefson GD. (2001) Long-term olanzapine treatment: weight change and weight-related health factors in schizophrenia. *J Clin Psychiatry*. 62(2):92-100.
77. Klein DJ, Cottingham EM, Sorter M, Barton BA, Morrison JA. (2006) A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Metformin Treatment of Weight Gain Associated With Initiation of Atypical Antipsychotic Therapy in Children and Adolescents. *Am J Psychiatry*; 163: 2072-2079.
78. Kolonics A, Literati-Nagy P, Peitl B, Laszlo L, Horvath T, Kulcsar E, Porszasz R, Paragh G, Bernath S, Literati-Nagy B, Koranyi L, Szilvassy Z, Tory K, Roth J.(2006) BGP-15, a new type of insulin sensitizer. *Diabetes*; 55 (Suppl 1):A483-A484
79. Kunos G, Tam J. (2011) The case for peripheral CB1 receptor blockade in the treatment of visceral obesity and its cardiometabolic complications. *Br J Pharmacol*. 163(7):1423-31.
80. 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
81. Lambert BL, Cunningham FE, Miller DR, Dalack GW, Hur K (2006) Diabetes risk associated with use of olanzapine, quetiapine, and risperidone in veterans health administration patients with schizophrenia. *Am. J Epidemiol* 164:672-68.
82. Lee JY, Sohn KH, Rhee SH, Hwang D. (2001) Saturated fatty acids, but not unsaturated fatty acids, induce the expression of cyclooxygenase-2 mediated through Toll-like receptor 4. *J Biol Chem*. 18;276(20):16683-9.
83. Lee YH, Chen SY, Wiesner RJ, Huang YF. (2005) Simple flow cytometric method used to assess lipid accumulation in fat cells. *Journal of Lipid Research* 45(6):1162-7.
84. de Leon J, Susce MT, Johnson M, Hardin M, Pointer L, Ruaño G, Windemuth A, Diaz FJ. (2007) A clinical study of the association of antipsychotics with hyperlipidemia. *Schizophr Res*. 92:95

85. Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS. (2005) Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med.* 353(12):1209-1223
86. Lin Y, Berg AH, Iyengar P, Lam TK, Giacca A, Combs TP, Rajala MW, Du X, Rollman B, Li W, Hawkins M, Barzilai N, Rhodes CJ, Fantus IG, Brownlee M, Scherer PE. (2005) The hyperglycemia-induced inflammatory response in adipocytes: the role of reactive oxygen species. *J Biol Chem.* 11;280(6):4617-26.
87. Linnane AW, Marzuki S, Ozawa T, Tanaka M. (1989) Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet.* 1:642– 645
88. 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: 374–380
89. 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 co-inducer) BGP-15 on olanzapine-induced metabolic disorders. *Brain Research Bulletin* 83: 340-344
90. Liu, J., Huan, C., Chakraborty, M., Zhang, H., Lu, D., Kuo, M. S., Cao, G., Jiang, X. C. (2009) Macrophage sphingomyelin synthase 2 deficiency decreases atherosclerosis in mice. *Circ. Res.* 105, 295–303
91. Maayan L, Vakhrusheva J, Correll CU. (2010) Effectiveness of Medications Used to Attenuate Antipsychotic-Related Weight Gain and Metabolic Abnormalities: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychopharmacology* 35, 1520–1530
92. Mandl J, Mészáros T, Bánhegyi G, Hunyady L, Csala M (2009) Endoplasmic reticulum: nutrient sensor in physiology and pathology. *Trends Endocrinol Metab* 20:194–201

93. Martin S, Parton RG. (2005) Caveolin, cholesterol, and lipid bodies. *Semin Cell Dev Biol.* 16(2):163-74
94. Matsuda T, Kido Y, Uchida T, Kasuga M. (2008) Reduced Insulin Signaling and Endoplasmic Reticulum Stress Act Synergistically to Deteriorate Pancreatic  $\beta$  Cell Function *Kobe J. Med. Sci.*, Vol. 54, No. 2, pp. E114-E121
95. Matsui-Sakata A, Ohtani H, Sawada Y.(2005) Receptor occupancy-based analysis of the contributions of various receptors to antipsychotics-induced weight gain and diabetes mellitus. *Drug Metab Pharmacokinet.* 20(5):368-78
96. Maula T, Westerlund B, Slotte JP. (2009) Differential ability of cholesterol-enriched and gel phase domains to resist benzyl alcohol-induced fluidization in multilamellar lipid vesicles. *BBA*; 1788: 2454-61
97. Meldrum KK, Burnett AL, Meng X, Misseri R, Shaw MB, Gearhart JP, Meldrum DR. (2003) Liposomal delivery of heat shock protein 72 into renal tubular cells blocks nuclear factor-kappaB activation, tumor necrosis factor-alpha production, and subsequent ischemia-induced apoptosis. *Circ Res* 92:293–299.
98. Meyer JM, Koro CE. (2004) The effects of antipsychotic therapy on serum lipids: a comprehensive review. *Schizophr Res.*70(1):1-17
99. Meyer J (2005) Letters to the editors: reply to comments made by Baptista et al. *J Clin Psychopharm.* Vol22(5):538
100. Mitsutake S, Zama K, Yokota H, Yoshida T, Tanaka M, Mitsui M, Ikawa M, Okabe M, Tanaka Y, Yamashita T, Takemoto H, Okazaki T, Watanabe K, Igarashi Y. (2011) Dynamic modification of sphingomyelin in lipid microdomains controls development of obesity, fatty liver, and type 2 diabetes. *J Biol Chem.* 286(32):28544-55
101. Mogensen M, Sahlin K, Fernström M, Glinborg D, Vind BF, Beck-Nielsen H, Højlund K. (2007) Mitochondrial respiration is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes.* 56(6):1592-9

102. Morimoto RI (1993) Cells in stress: Transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 259:1409–1410.
103. Muoio DM, Newgard CB. (2004) Insulin resistance takes a trip through the ER. *Science* 306: 425-426
104. Nagy E, Balogi Zs, Gombos I, Akerfelt M, Bjorkbom A, Balogh G, Török Z, Maslyanko A, Fiszler-Kierzkowska A, Lisowska K, Slotte PJ, Sistonen L, Horváth I, Vigh L. (2007) Hyperfluidization-coupled membrane microdomain reorganization is linked to activation of the heat shock response in a murine melanoma cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 7945–7950.
105. Nagy G, Szarka A, Lotz G, Dóczy J, Wunderlich L, Kiss A, Jemnitz K, Veres Z, Bánhegyi G, Schaff Z, Sümegi B, Mandl J (2010) BGP- 15 inhibits caspase-independent programmed cell death in acetaminophen-induced liver injury. *Toxicol Appl Pharmacol* 243:96–103
106. Nasrallah HA. (2008) Atypical antipsychotic-induced metabolic side effects: insights from receptor-binding profiles. *Mol Psychiatry*. 13(1):27-35.
107. Newcomer JW. (2005) Second-generation (atypical) antipsychotics and metabolic effects: a comprehensive literature review. *CNS Drugs*.19(suppl 1):1- 93.3
108. Ortegren U, Aboulaich N, Ost A, Strålfors P. (2007) *Trends Endocrinol Metab*.18(9):344-9.5
109. Ota M, Mori K, Nakashima A, Kaneko YS, Fujiwara K, Itoh M, Nagasaka A, Ota A. (2002) Peripheral injection of risperidone, an atypical antipsychotic, alters the bodyweight gain of rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 29(11):980-9.
110. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. (2004) Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science* 306:457–461.

111. Ozcan U, Yilmaz E, Ozcan L, Furuhashi M, Vaillancourt E, Smith RO, Görgün CZ, Hotamisligil GS. (2006) Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science* 313:1137–1140.
112. Palik E, Birkás KD, Faludi G, Karádi I, Cseh K. (2005) Correlation of serum ghrelin levels with body mass index and carbohydrate metabolism in patients treated with atypical antipsychotics. *Diabetes Res Clin Pract.* 68 Suppl1:S60-4.
113. Panariello F, Vincenzo De Luca, Andrea de Bartolomeis (2010) Weight Gain, Schizophrenia and Antipsychotics: New Findings from Animal Model and Pharmacogenomic Studies. *Schizophrenia Research and Treatment* Article ID 459284, doi:10.1155/2011/459284
114. Parihar MS, Parihar A, Villamena FA, Vaccaro PS, Ghafourifar P. (2008) Inactivation of mitochondrial respiratory chain complex I leads mitochondrial nitric oxide synthase to become pro-oxidative. *Biochem Biophys Res Commun.* 21;367(4):761-7
115. 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.
116. Patti ME, Butte AJ, Crunkhorn S, Cusi K, Berria R, Kashyap S, Miyazaki Y, Kohane I, Costello M, Saccone R, Landaker EJ, Goldfine AB, Mun E, DeFronzo R, Finlayson J, Kahn CR, Mandarino LJ, (2003) Coordinated reduction of genes of oxidative metabolism in humans with insulin resistance and diabetes: Potential role of PGC1 and NRF1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8;100(14):8466-71
117. Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. (2003) Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science.* 300:1140–1142.
118. Prattes S, Hörl G, Hammer A, Blaschitz A, Graier WF, Sattler W, Zechner R, Steyrer E. (2000) Intracellular distribution and mobilization of unesterified cholesterol in



adipocytes: triglyceride droplets are surrounded by cholesterol-rich ER-like surface layer structures. *J Cell Sci.* 113 ( Pt 17):2977-89.

119. Racz I, Tory K, Gallyas F Jr, Berente Z, Osz E, Jaszlits L, Bernath S, Sumegi B, Rabloczky 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.*, 63:1099-111.
120. Remy I, Montmarquette A, Michnick SW. (2004) PKB/Akt modulates TGF-beta signalling through a direct interaction with Smad3. *Nat. Cell Biol.* 6:358
121. Reuvers S (2005) The Evidence for Drug Treatment Options in Antipsychotic-Induced Weight Gain. *Graylands Hospital Drug Bulletin Vol. 13 No. 3 ISSN 1323-1251*
122. Ritov VB, Menshikova EV, Azuma K, Wood R, Toledo FG, Goodpaster BH, Ruderman NB, Kelley DE (2010) Deficiency of electron transport chain in human skeletal muscle mitochondria in type 2 diabetes mellitus and obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298(1):E49-58.
123. Robinson KA, Yacoub SZ, Buse MG. (2006) At therapeutic concentrations, olanzapine does not affect basal or insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Prog Neuro- Psychopharm Biol Psychiatry* 30: 93–98
124. Ruzanna ZZ, Ong LY, Cheah YC, Fairuz A, Marhani M. (2012) The association between dyslipidaemia and types of antipsychotic medications among patients with chronic schizophrenia. *Med J Malaysia.* 67(1):39-44.
125. Saari F, Koponen H, Laitinen J, Jokelainen J, Lauren L, Isohanni M, Lindeman S (2004) Hyperlipidemia in persons using antipsychotic medication: a general population – based birth cohort study. *J. Clin Psychiatry* 65:547-550
126. Sacher J, Mossaheb N, Spindelegger C, Klein N, Geiss-Granadia T, Sauer mann R, Lackner E, Joukhadar C, Müller M, Kasper S. (2008) Effects of Olanzapine and

Ziprasidone on Glucose Tolerance in Healthy Volunteers. *Neuropsychopharmacology* 33, 1633–1641

127. Sangwon F. Kim, Alex S Huang, Adele M. Snowman, Cory Teuscher, Solomon H. Snyder (2006) Antipsychotic drug-induced weight gain mediated by histamine H<sub>1</sub> receptor linked activation of hypothalamic AMP-kinase *PNAS* 104 (9): 3456-3459
128. Santoro MG (2000) Heat shock factors and the control of the stress response. *Biochemical pharmacology* 59 (1): 55–63
129. Schäfer A, Pfrang J, Neumüller J, Fiedler S, Ertl G, Bauersachs J. (2008) The cannabinoid receptor-1 antagonist rimonabant inhibits platelet activation and reduces pro-inflammatory chemokines and leukocytes in Zucker rats. *Br J Pharmacol.* 154(5):1047-54.
130. Scheen AJ, Finer N, Hollander P, Jensen MD, Van Gaal LF (2006) RIO-Diabetes Study Group: Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet* 368:1660–1672
131. Schroder M, Kaufman RJ (2005) The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem* 74: 739–789
132. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. (2006) Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 116:1793–1801
133. Simoneau JA, Kelley DE (1997) Altered skeletal muscle glycolytic and oxidative capacities contribute to insulin resistance in NIDDM. *J Appl Physiol* 83:166–171.
134. Simons K, Gerl MJ. (2010) Revitalizing membrane rafts: new tools and insights. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 11(10):688-99.
135. Sloan LA, Fillmore MC, Churcher I. (2009) Small-molecule modulation of cellular chaperones to treat protein misfolding disorders. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 12(5):666-81.

136. Smith GC, Vickers MH, Cognard E, Shepherd PR. (2009) Clozapine and quetiapine acutely reduce glucagon-like peptide-1 production and increase glucagon release in obese rats: implications for glucose metabolism and food choice behaviour. *Schizophr Res.* 115(1):30-40
137. Sourris KC, Lyons JG, de Courten MP, Dougherty SL, Henstridge DC, Cooper ME, Hage M, Dart A, Kingwell BA, Forbes JM, de Courten B. (2009) c-Jun NH2-terminal kinase activity in subcutaneous adipose tissue but not nuclear factor-kappaB activity in peripheral blood mononuclear cells is an independent determinant of insulin resistance in healthy individuals. *Diabetes.* 58(6):1259-65.
138. Sőti C, Pál C, Papp B, Csermely P. (2005) Molecular chaperones as regulatory elements of cellular networks. *Curr. Opin. Cell Biol* 17: 210-5.
139. Sőti C, and Csermely P. (2005) Pharmacological modulation of the heat shock response. In: *Molecular chaperones in health and disease*, edited by Gaestel M. *Handbook of Experimental Pharmacology*; Berlin: Springer Verlag, 172: 417-36.
140. Sőti C, Nagy E, Giricz Z, Vigh L, Csermely P, Ferdinandy P. (2005) Heat shock proteins as emerging therapeutic targets. *Brit J Pharmacol* 146: 769-80.
141. Summers SA. (2006) Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog Lipid Res.* 245(1):42-72.
142. Stump CS, Short KR, Bigelow ML, Schimke JM, Nair KS. (2003) Effect of insulin on human skeletal muscle mitochondrial ATP production, protein synthesis, and mRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100:7996–8001.
143. Szabados E, Literati-Nagy P, Farkas B, Sumegi B (2000) BGP-15, a nicotinic amidoxime derivate protecting heart from ischemia reperfusion injury through modulation of poly(ADP-ribose) polymerase. *Biochem Pharmacol* 59:937–45

144. Szilvássy J, Sziklai I, Sári R, Németh J, Peitl B, Porszasz R, Lonovics J, Szilvássy Z. (2006) Neurogenic insulin resistance in guinea-pigs with cisplatin-induced neuropathy. *Eur J Pharmacol.* 15;531(1-3):217-25
145. Tafesse FG, Ternes P, Holthuis JC. (2006) The multigenic sphingomyelin synthase family. *J Biol Chem.* 281(40):29421-5.
146. Tan CK, Leuenberger N, Tan MJ, Yan YW, Chen Y, Kambadur R et al. (2011) Smad3 deficiency in mice protects against insulin resistance and obesity induced by a high-fat diet. *Diabetes* 60: 464–476
147. Tong P, Thomas T, Berrish T, Humphriss D, Barriocanal L, Stewart M, Walker M, Wilkinson R, Alberti KG (1995) Cell membrane dynamics and insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*; 345:357–358.
148. Xin H, Tanaka H, Yamaguchi M, Takemori S, Nakamura A, Kohama K. (2005) Vanilloid receptor expressed in the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 8;332(3):756-62
149. Vestri HS, Maianu L, Moellering DR, Garvey WT. (2007) Atypical antipsychotic drugs directly impair insulin action in adipocytes: effects on glucose transport, lipogenesis, and antilipolysis. *Neuropsychopharmacology.* 32(4):765-72.
150. Vickers SP, Benwell KR, Porter RH, Bickerdike MJ, Kennett GA, Dourish CT. (2000) Comparative effects of continuous infusion of mCPP, Ro 60-0175 and dfenfluramine on food intake, water intake, body weight and locomotor activity in rats. *British Journal of Pharmacology*, vol. 130, no. 6, pp. 1305–1314
151. Vidarsdottir S, Roelfsema F, Streefland T, Holst JJ, Rehfeld JF, Pijl H. (2010) Short-term treatment with olanzapine does not modulate gut hormone secretion: olanzapine disintegrating versus standard tablets. *Eur J Endocrinol.* 162(1):75-83.
152. Víggh L, Literáti Nagy P, Horváth I, Török Z, Balogh G, Glatz A, Kovács E, Boros I, Ferdinándy P, Farkas B, Jaszlits L, Jednákovits A, Korányi L, and Maresca B. (1997)

Bimoclolmol: a nontoxic, hydroxilamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects. *Nat Med* 3: 1150-4.

153. Vigh L, Maresca B, Harwood J (1998) Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *Trends Biochem Sci* 23: 369–373.
154. Vigh L, Horváth I, Maresca B, Harwood J (2007) Can the stress protein response be controlled by 'membrane-lipid therapy'? *Trends Biochem Sci* 32: 357–363.
155. Vilsbøll T, Christensen M, Junker AE, Knop FK, Gluud LL (2012) Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 10;344:d7771
156. Westerheide SD, Anckar J, Stevens SM Jr, Sistonen L, Morimoto RI. (2009) Stress-inducible regulation of heat shock factor 1 by the deacetylase SIRT1. *Science.*, 323(5917):1063-6.
157. Weston-Green K, Huang XF, Deng C. Source (2011) Olanzapine treatment and metabolic dysfunction: a dose response study in female Sprague Dawley rats. *Behav Brain Res.*217(2):337-46.
158. WHO Department of Mental Health; Global Forum for Community Mental Health (Geneva, 30-31 May 2007)
159. van Winkel R., De Hert M, Wampers M, Van Eyck D, Hanssens L, Scheen A, Peuskens J. (2008) Major changes in glucose metabolism, including new-onset diabetes, within 3 months after initiation of or switch to atypical antipsychotic medication in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *J Clin Psychiatry.* 69:472
160. Weiss Y, Bromberg, P. Goloubinoff (2009) Activation of the heat shock response by membrane dependent calcium channel receptors effect in inflammation and cancer Electronic poster Vienna

161. 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.
162. Wolins NE, Brasaemle DL, Bickel PE (2006) A proposed model of fat packaging by exchangeable lipid droplet proteins *FEBS Lett*. 580(23):5484-91
163. Wu RR, Zhao JP, Liu ZN, et al (2006) Effects of typical and atypical antipsychotics on glucose-insulin homeostasis and lipid metabolism in first-episode schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 186(4):572-578
164. 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*. 299:185
165. Wu RR, Zhao JP, Guo XF, He YQ, Fang MS, Guo WB, Chen JD, Li LH. (2008) Metformin Addition Attenuates Olanzapine-Induced Weight Gain in Drug-Naïve First-Episode Schizophrenia Patients: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Am J Psychiatry*; 165: 352-358.
166. Zhang D, Ke L, Mackovicova K, Van Der Want JJ, Sibon OC, Tanguay RM, Morrow G, Henning RH, Kampinga HH, Brundel BJ. (2011) Effects of different small HSPB members on contractile dysfunction and structural changes in a *Drosophila melanogaster* model for Atrial Fibrillation. *J Mol Cell Cardiol*. 51(3):381-9.
167. van der Zwaal EM, Merkestein M, Lam YK, Brans MA, Luijendijk MC, Bok LI, Verheij ER, la Fleur SE, Adan RA. (2012) The acute effects of olanzapine on ghrelin secretion, CCK sensitivity, meal size, locomotor activity and body temperature. *Int J Obes* 36(2):254-61.

### 13 SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

#### A dolgozat témakörében megjelent közlemények:

1. **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 Chaperon*. 17(4):517-21 (IF: 3,013)
2. **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. (IF:1,366)
3. **Literati-Nagy Z**, Tory K, Literáti-Nagy B, Bajza Á, Vigh L Jr., Vigh L, Mandl J, Szilvássy Z (2013) Synergetic insulin sensitizing effect of rimonabant and BGP-15 in Zucker-obese rats. *Pathol Oncol Res*. 19(3):571-5 (IF:1,366)
4. Crul T, Toth N, Piotto S, Literati-Nagy P, Tory K, Haldimann P, Kalmar B, Greensmith L, Torok Z, Balogh G, Gombos I, Campana F, Concilio S, Gallyas F, Nagy G, Berente Z, Gungor B, Peter M, Glatz A, Hunya A, **Literati-Nagy Z**, Vigh L Jr., Hoogstra-Berends F, Heeres A, Kuipers I, Loen L, Seerden JP, Zhang D, Meijering RA, Henning RH, Brundel BJ, Kampinga HH, Koranyi L, Szilvassy Z, Mandl J, Sumegi B, Febbraio MA, Horvath I, Hooper PL, Vigh L (2013) Hydroxamic acid derivatives: pleiotrophic HSP coinducers restoring homeostasis and robustness. *Curr. Phar. Des* 19(3):309-46 (IF:3,87)

#### Egyéb közlemények:

1. 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: 374–380 (IF:2,686)

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 co-inducer) BGP-15 on olanzapine-induced metabolic disorders. *Brain Research Bulletin* 83: 340-344 (IF:2,498)
  
3. Gombos I, Crul T, Piotto S, Güngör 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(IF:4,092)



## 14 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőimnek **Mandl József** egyetemi tanárnak és akadémikusnak, az Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet és a Patobiokémia doktori program vezetőjének, és **Vígh László** egyetemi tanárnak és akadémikusnak, az MTA Szegedi Biológia Központ Biokémia Intézet vezetőjének, hogy kutatómunkámat lehetővé tették, támogatták és nélkülözhetetlen szakmai segítségükkel nagymértékben hozzájárultak munkám sikeréhez.

Hálás köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Tory Kálmánnak azért a támogatásért, tudományos iránymutatásért és megértésért, amelyre kutatómunkám során mindig támaszkodhattam. Köszönöm Dr. Kolonics Attilának, Dr. Horváth Ibolyának, Dr. Török Zsoltnak, Dr. Balogh Gábornak és Szilvássy Zoltán egyetemi tanárnak, hogy ötleteikkel és építő kritikájukkal segítettek a munkámat. Hálás vagyok Turbók Józsefnek a kísérletek kivitelezése során nyújtott segítségéért és tanácsiért.

Végül és mindenekelőtt szeretném megköszönni családomnak, különösképpen Édesapámnak, hogy céljaim elérésében támogattak, és szeretetükre, megértésükre mindig támaszkodhattam.