

OTKA (75965) zárójelentés

Az elért eredmények rövid ismertetése:

Metabolikus vizsgálat:

A postprandiális inzulinérzékenység meghatározáshoz rapid inzulinérzékenység tesztet (rapid insulin sensitivity test; röviden RIST), míg a bazális, éhgyomri inzulinérzékenység meghatározásához hyperinzulinémiás euglycaemiás glükóz clamp (HEGC) módszert választottunk.

Az állatok testsúlyát a kezelés ideje alatt hetente 2 alkalommal meghatároztuk. Az 5 hetes kezelés utolsó hetében OLETF és LETO CTRL csoport állatai metabolikus ketreche kerültek. Három napos akklimatizációt követően került sor a 24 óra alatt elfogyasztott táp (g) és folyadék (ml), valamint az ürített vizelet (ml) és széklet (g) mennyiségének meghatározására. A CCK receptor antagonistá proglumide posztprandiális inzulinérzékenység fokozódásra gyakorolt hatásának vizsgálatához 5 csoport került kialakításra. A kísérletet megelőzően az állatokat 14 órán át éhezettük, majd az egyik csoportnak nem adtuk vissza a tápot, (éheztetett, „fasted” csoport), míg a többi 4 csoport 2 órára visszakapta a tápot, hogy ad libitum ehessenek. Ez utóbbiakat a proglumide 3, 10 és 30 mg/kg dóziséval kezeltünk intravénásan. Az éheztetett kontroll csoport a proglumide oldószerét (fiziológiás sóoldat) kapta intravénásan. Ezt követően került sor a RIST módszer elvégzésére és a posztprandiális inzulinérzékenység meghatározására.

A CCK receptorok szerepét a bazális inzulinérzékenységben hyperinzulinémiás euglikémiás glükóz clamp (HEGC) módszerrel határoztuk meg. Mind az OLETF, mind a LETO patkányoknál 4-4 csoport került kialakításra. Az AAP kiváltotta hatások vizsgálatára klopapint adtunk 5 héten át napi 10 mg/kg dózisban szájon át nazogasztrikus szondázás révén (KLO csoport). A klopapin okozta inzulin rezisztencia kezelésére roziglitazont adtunk a klopapinnal párhuzamosan, 5 héten át, napi 3 mg/kg, szintén szájon át (KLOROZ csoport). Emellett megvizsgáltuk a roziglitazon inzulinérzékenyítő hatását OLETF patkányban klopapin kezelés nélkül is (ROZ csoport). A kontroll csoport a gyógyszerek oldószerét (csapvíz) kapta, 5 héten keresztül 1 ml ösztérfogatban nazogasztrikus szondán keresztül (CTRL csoport). A kísérletet megelőzően az állatokat 16 órán át éhezettük. A teljes test inzulinérzékenységet a HEGC 90. és 120. perce között mért átlagos cukorinfúziós sebesség (mg/kg/min) jellemzi.

A CCK-1 és CCK-2 receptorok hypothalamikus expressióját real-time PCR, az éhgyomri plazma inzulinszintet (HEGC módszer során) pedig RIA módszerrel határoztuk meg.

Eredményeinket az alábbiakban foglalhatjuk össze:

A klopapin kezelés hatására mind a LETO, mind az OLETF patkányok testsúlya megnövekedett a LETO ill. OLETF kontroll csoporthoz képest. A metabolikus paraméterekben (táp- és folyadékfogyasztás ill. széklet és vizelet ürítés) nem volt szignifikáns különbség.

A LETO patkányban megfigyelhető posztprandiális inzulinérzékenység fokozódás (fed vs fasted) proglumide kezelés hatására dózis-függően lecsökkent. Ugyanakkor a posztprandiális inzulinérzékenység fokozódás az OLETF patkányban nem volt megfigyelhető.

A bazális inzulinérzékenység az OLETF patkányban szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott a LETO-hoz viszonyítva. A klopapin kezelés hatására az OLETF patkány inzulin rezisztenciája kis mértékben tovább romlott. Ugyanakkor LETO patkány esetében a bazális inzulinérzékenységet a klopapin kezelés nem befolyásolta. A rosiglitazone kezelés az OLETF patkány inzulin rezisztenciáját helyreállította és a klopapin okozta inzulin rezisztenciát is javította. A LETO patkányban a rosiglitazone kezelésnek nem volt hatása.

A CCK-1 receptor az OLETF patkányban nem volt kimutatható. Klozapin kezelés hatására a CCK-2 receptor mRNS expressziója a LETO állatban szignifikánsan fokozódott, de nem volt változás az OLETF patkányok esetében.

E feladatrészt összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a funkcionálisan ép CCK-1 receptorok jelenléte megakadályozza a klozapin okozta inzulin rezisztencia kialakulását, de nem befolyásolja az AAP kiváltotta testsúlynövekedést. A rosiglitazone inzulinérzékenyítő hatásában a CCK-1 receptorok nem játszanak szerepet (Peitl et al. 2009, 2010, Szilvássy et al 2012).

Kardiovaszkuláris vizsgálat:

A vizsgálatokat Új-Zélandi fehér nyulakon végeztük. A kísérletek előtt 2 héttel került sor a szívritmus szabályozó elektróda beültetésére. Ezt követően került sor a kísérletre. Vénán keresztül folyamatos 5 ill.10 mU/kg/min sebességű inzulin infúziót adtunk, a hypoglikémia megakadályozására cukorinfúziót. Közvetlenül a HEGC előtt, valamint steady state állapot kialakulását követően meghatároztuk programozott ingerléssel az elektrofiziológiai paramétereket. Az eredményeket az alábbiakban lehet összefoglalni: Az emelkedett plazma inzulinszint mellett dózis-függően gyakrabban fordult elő mind szupraventrikuláris, mind kamrai extrasystolé. A szív elektrofiziológiai jellemzői közül a QRS kiszélesedése valamint az effektív refrakter periódus szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető.

Eredményeink elsőként igazolják, hogy a magas inzulinszint szívritmuszavarokra hajlamosít egészséges Új-Zélandi fehér nyúlban.

Kardiovaszkuláris vizsgálat koleszterin dús takarmányon tartott állatokon:

A vizsgálatokat Új-Zélandi fehér nyulakon végeztük. Az állatok érkezését követően 1.5%-os koleszterin tartalmú tápot kaptak 8 héten keresztül. A koleszterin dús táp fogyasztásának 6. hetében (kísérleteket 2 héttel megelőzően) került sor a szívritmus szabályozó elektróda beültetésére. Két hetes gyógyulási periódust követően végeztük el a kísérletet. A hyperinzulinémia kiváltása és fenntartása céljából Hyperinzulinémiás Euglycaemias Glükóz Clamp (HEGC) módszert használtunk. Ennek során a fülvénán keresztül folyamatos 5 ill.10 mU/kg/min sebességű inzulin infúziót adtunk. Azért, hogy megakadályozzuk a hypoglikémia kialakulását, ezzel egy időben cukorinfúziót is indítottunk, melynek sebességét úgy választottuk meg, hogy az euglykémias állapotot (5.5 ± 0.5 mmol/l) fenntartsuk. Testfelszíni (végtagi és mellkasi) EKG elektródákkal folyamatosan regisztráltuk a szív működést. Közvetlenül a HEGC előtt, valamint steady state állapot kialakulását követően meghatároztuk programozott ingerléssel az elektrofiziológiai paramétereket.

Az eredményeket az alábbiakban lehet összefoglalni: Az alkalmazott diéta hatására az állatok plazma lipidszintje jelentősen megemelkedett az egészséges állatokhoz képest. A lipidszintben bekövetkezett változás együtt járt az inzulin érzékenység csökkenésével, amit a HEGC alatt mért, az euglycaemia fenntartásához szükséges alacsonyabb cukorinfúziós sebesség mutatott (21.2 ± 2.2 vs 13.6 ± 1.7 mg/kg/min). Az inzulin rezisztencia kialakulása mellett az éhgyomri plazma inzulinszint is magasabb volt a hiperkoleszterinémiás állatokban, mint az egészségesekben (54.3 ± 6.7 vs 15.1 ± 2.3 μ U/ml). A HEGC steady state alatt a plazma inzulinszint tovább emelkedett, 5 mU/kg/min inzulin sebességnél 89.5 ± 12.3 μ U/ml, míg 10 mU/kg/min inzulin sebességnél 189.7 ± 21.3 mikroU/ml volt. Az egészséges csoporthoz (az egy évvel ezelőtti vizsgálat során) képest a HEGC előtt gyakrabban lehetett szívritmuszavart kiváltani, ugyanakkor a HEGC alatt a ritmuszavarok gyakorisága már nem nőtt tovább (Bajza et al 2011).

Konklúzió: az inzulin rezisztencia mellett gyakrabban figyelhető meg szívritmuszavar, melyet a társuló hiperinzulinaemia magyarázhat. Annak vizsgálata, hogy a plazma inzulinszint további emelkedése miért nem növeli a ritmuszavarok gyakoriságát, további vizsgálatokat igényel. Lehetséges magyarázat a tartósan fennálló hiperinzulinémiához való adaptáció, vagy hogy az inzulinrezisztencia mellett fennálló magas plazma inzulinszint már supramaximális ingerként viselkedik és az inzulinszint további emelkedése már nem okoz további hatást.

Kardiovaszkuláris biztonságfarmakológiai modell:

A gyógyszerfejlesztés során azok a gyógyszerek, melyek farmakológiailag hatékonyak mutatkoznak, nagy számban esnek ki a preklinikai biztonságfarmakológiai vizsgálatok során vagy amennyiben piacra kerülnek, sokszor vissza kell őket vonni a fellépő szív- és érrendszeri mellékhatások miatt. E mellékhatások közül a legfontosabb, közvetlen az életet veszélyeztető mellékhatás az ún. polimorf kamrai tachycardia vagy ismertebb nevén „torsade de pointes” tachycardia (TdP), mely a leggyakoribb oka a hirtelen szívhalálnak. Épp ezért fontos egy olyan preklinikai modell kifejlesztése, mely megbízhatóan képes megjósolni e torsadogén hatásokat már a preklinikai fázisban, hisz így a fejlesztő cég időben le tudja állítani azokat a fejlesztéseket, melyek TdP-t okozhatnak, így csökkenteni tudják a gyógyszerfejlesztés amúgy igen magas idő és pénzigényét. A munkacsoportunk által kifejlesztett kardiovaszkuláris biztonságfarmakológiai modell lényege, hogy éber nyúlban meg tudjuk vizsgálni, hogy egy adott gyógyszer vagy gyógyszerjelölt alkalmazása esetén kell-e számítani torsadogén hatásokra. A nyúl (Új-Zélandi fehér, hím), mint modell állat az okból kifolyólag fontos, hogy a szív hERG ioncsatornája igen nagyfokú hasonlóságot mutatnak az emberi hERG csatornával, szemben más gyakran használt (pl. patkány, egér) modellállat szívével. A módszer lényege, hogy pacemaker elektródát ültetünk be nyúlba, majd a gyógyulási időszakot követően tesztanyagok intravénás vagy per os alkalmazása mellett meghatározzuk a főbb elektrofiziológiai (testfelszíni EKG, QT, QTc, repolarizációs diszperzitás: Tcsúcs-Tvége, kamrai refrakter periódus, ritmuszavar indukálhatóság) paramétereket. Mivel a TdP kialakulásában a hERG csatorna gátlásának tulajdonítanak nagy jelentőséget, így az egyik megvizsgálandó gyógyszer az IKr ioncsatorna gátló d,l-sotalol volt. Emellett megvizsgáltuk a cicletanine antiaritmiás hatását, mely vegyület antiaritmiás hatását számos in vitro tanulmányban igazolták, azonban in vivo kisállat modellben mindez ideig nem vizsgálták e hatását. Kontrollként a vizsgálati anyagok oldószerét, (desztillált víz) használjuk. Az állatok érkezését követően 1 héttel került sor a szívritmus szabályozó elektróda beültetésére, majd két hetes gyógyulási periódust követően végeztük el a kísérleteket. Az elvégzett kísérletek során a humán EKG QT távolság megnyúlását okozó anyagok elektrofiziológiai hatását vizsgáltuk meg krónikusan instrumentált éber nyúl modellben. Ennek során testfelszíni (végtagi és mellkasi) EKG elektródákkal folyamatosan regisztráltuk a szívműködést, mely során először meghatároztuk a kiindulási elektrofiziológiai paramétereket. Meghatároztuk a szívfrekvenciát, a vérnyomást, és rögzítettük a testfelszíni EKG görbét, mely off-line kiértékelésével meghatároztuk a QT, távolságot, a T hullám csúcsa és vége közti időpontot (Tp-Te), az RR távolságot, valamint a QTc értéket. Ezt követően meghatároztuk a pace-eléshez szükséges ingerküszöböt, majd az ingerküszöb kétszeresével ingerelve meghatároztuk a jobb kamrai effektív refrakter periódust (VERP). Végül a VERP értékek ismeretében, a diasztolés késői szakában leadott 2 db programozott ingerléssel ritmuszavart próbáltunk kiváltani, amit egy ciklusban 10 alkalommal ismételtünk, s e ciklust 10 alkalommal ismételtük. A ritmuszavarra való hajlamot az fejezi ki, hogy a 10 ciklus értékei alapján 1 ciklusban átlagosan hány alkalommal sikerül (pitvari vagy kamrai eredetű) ritmuszavart kiváltani. Az alap értékek meghatározását követően került sor a gyógyszerek beadására, intravénásan. A beadást

követően 10 perccel a fentebb említett eljárás megismételtük, és ismét meghatároztuk az elektrofiziológiai paramétereiket. Végül az adatokat statisztikailag kiértékeltek.

Az eredményeket az alábbiakban lehet összefoglalni: A sotalol csökkentette a VERP-et és növelte a QTc értéket, ugyanakkor a Tp-Te távolság nem változott, a kamrai ritmuszavarok száma csökkent és TdP-t sem lehetett kiváltani. A cicletanine esetében a VERP érték csökkent, a QTc és a Tp-Te távolság nem változott, a pitvari eredetű ritmuszavarok száma pedig csökkent. Konklúzió: igazoltuk modellünkben a sotalol QT nyújtó hatását (IKr hatás), s azt, hogy az IKr gátló szer alkalmazásával nem lehetett TdP-t kiváltani, azzal magyarázhatjuk, hogy a repolarizációs diszperzitás nem nőtt. Emellett igazoltuk, hogy a cicletanine in vivo is antiaritmias hatású, mely hatás elsősorban a pitvari eredetű ritmuszavarok kialakulásának csökkenésében mutatkozik meg (Bajza et al 2011, Drimba et al. 2012, (in press) 2013, submitted).

Gasztrointesztinális peptidek szerepe az elhízás kialakulásában:

A kísérletekhez nőstény, Wistar patkányokat használtunk. Az állatokat random módon 2 csoportba osztottuk. Az elhízást és az inzulin rezisztencia kialakulását olanzapin adásával váltottuk ki, ennek során az állatokat napi 1 alkalommal per os 4 héten keresztül 5 mg/kg olanzapinnal kezeltük. A kontroll csoportot az olanzapin oldószerével (csapvíz) kezeltük ugyancsak 4 héten át. Ez alatt az idő alatt az állatokat standard állatházi körülmények között tartottuk, standard laboratóriumi tápot és vizet kaptak ad libitum. A kezelés utolsó napja előtt az állatokat 16 órán keresztül éhezettük, majd a vizsgálat napján 2 órára visszakapták a tápot, melyből ad libitum fogyaszthattak. Azt követően az állatokat elaltattuk és Rapid Insulin Sensitivity Test-et végeztünk a post-prandiális inzulinérzékenység meghatározása céljából a korábban leírtak szerint (Peitl és mtsai: Metabolism, 54 (2005) 579–583.). Az altatást követően, de még a RIST megkezdése előtt levett vérmintákból történt a GLP-1, GIP és Oxyntomodulin meghatározás az általunk kifejlesztett RIA módszer alkalmazásával. Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy az olanzapin kezelés mellett kialakuló elhízás (testsúly: 424±26 g vs 382±22 g) és inzulin rezisztencia (RIST index: 112±16 mg/kg vs 213±23 mg/kg) kialakulásában legalább is részben a posztprandiálisan csökkent GLP-1 felszabadulás (5.6±0.7 pmol/L vs 9.1±0.7 pmol/L) áll, míg a GIP és oxintomodulin plazma szintekben nem volt változás megfigyelhető.

DPP-IV gátlók tervezése és szintézise:

Számítógépes, ún. Molekuláris Interakciós Ujjlenyomat (MIF) módszer segítségével publikus adatbázisok szűrését végeztük olyan kémiai szerkezeteket keresve, melyek DPP-IV gátló aktivitással rendelkezhetnek in vivo. A predikció során kiszűrt vegyületek közül a 3 legígéretesebbnek látszó vegyülettel végeztünk in vitro és in vivo vizsgálatokat. Az in vitro vizsgálatok célja annak bizonyítása volt, hogy a számítógépes modellben kiszűrt vegyület valójában rendelkezik a DPP-IV gátló tulajdonsággal. Ezt in vitro enzim assay vizsgálatokkal igazoltuk, mely során a 3 vegyület közül 2 mutatott pozitív aktivitást, így az in vivo vizsgálatokat e 2 vegyülettel végeztük el.

Első lépésben meghatároztuk mindkét vegyület vonatkozásában az LD50 értéket, majd ezt követően a farmakológiai hatékonyság vizsgálatát orális glükóz tolerancia teszt (OGTT) elvégzésével kívántuk igazolni. Ennek során egészséges, hím CD-1 egerek a vizsgált vegyület 3 dózist kapták meg. A vizsgált dózistartomány az in vitro értékek alapján került meghatározásra, oly módon, hogy célunk az in vitro hatékonynak mutatkozott koncentráció elérése volt a vérben. Az OGTT vizsgálatot éhgyomorral végeztük, a levett vérmintákból meghatároztuk az éhgyomri vércukor és plazma inzulin koncentrációt, illetve ezek alapján a

teljes test inzulinérzékenységre utaló HOMA-IR index kiszámítható volt. Ezt követően 1g/kg 20%-os cukoroldatot adtunk szájon át gyomorszonda segítségével, majd meghatároztuk az egerek vércukor szintjét 5, 15, 30, 60, 90 és 120 perc elteltével.

A kapott eredmények megerősítették az *in vitro* vizsgálatok eredményeit, vagyis a két vizsgált vegyület legnagyobb alkalmazott dózisában szignifikánsan csökkentette a glükóz terhelésre bekövetkező vércukorszint emelkedést. További vizsgálatokat tervezünk e két vegyülettel cukorbeteg állatmodellek alkalmazásával.

Klinikai vizsgálat:

Az atípusos antipsychotikumok, mint pl. a clozapine, olanzapine és risperidone, amely szereket a skrizofénia vagy a mániákus depressios psychosis kezelésére használnak, súlyos metabolikus mellékhatásokkal rendelkeznek, amelyek következtében: elhízás, hyperlipiaemia és inzulin rezisztencia alakulhat ki. Állatkísérletekben kimutattuk, hogy az étkezés okozta inzulin érzékenyítés mechanizmusa együtt jár a CCK felszabadulással. A klinikai tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy egyszeri dózisban adott olanzapine-nak milyen hatása van az étkezés után bekövetkező CCK és más egyéb gasztrointesztinális peptid (VIP) felszabadulására.

A klinikai vizsgálatához előzetesen beszereztük a Debreceni Egyetem (DELEBC 26/08 ORL), valamint az Országos Gyógyszerészeti Intézet (PGYI 336/09 RD) engedélyét. A vizsgálatokhoz használt olanzapine a Zyprexa, (Eli Lilly Indianapolis, USA) termék volt. A vizsgálatba 24 fiatal (átlagos életkor 22±6.1 év) férfi önkéntest vontunk be, amelyek közül 20 teljesítette a teljes protokollt. Kizáró kritérium volt a magas vérnyomás, cukorbetegség, vagy dohányzás. A vizsgálatról a jelentkezők szóbeli és írásbeli tájékoztatást is kaptak. A kipróbálásba bevont személyeket három csoportba osztottuk. A kontroll csoportba tartozó személyek nem kaptak semmit, az olanzapine-os csoportba tartozók a kísérlet reggelén egy tablettát olanzapine-t (Zyprexa 10), a harmadik csoportba tartozó személyek placebo tablettát kaptak. Az önkéntes személyek előzőleg 12 órát éheztek. A kísérlet napján a vizsgálatba bevont személyek olyan reggelit kaptak, amely 900 kcal-át tartalmazott, amely energiataralom tekintetében 48% szénhidrát, 17% fehérje és 35% zsír volt. Vérvételek a reggeli elfogyasztását megelőzően 30 perccel, majd a reggelit követően újabb 30 perc elteltével történtek. Radioimmunoassay (RIA) módszerek segítségével mértük a CCK és VIP plazma koncentrációkat:

Eredményeinket táblázatban foglaltuk össze:

Effect of a single dose of 10 mg of olanzapine on fasting and post-prandial plasma level of CCK and VIP in healthy volunteers

	<u>Control</u>	<u>Placebo</u>	<u>Olanzapine</u>
FASTING:			
CCK (pmol/l)	1.1±0.14	0.98±0.11	1.2±0.09
VIP (pmol/l)	2.6±0.18	2.2±0.23	2.4±0.31
POST-BREAKFAST:			
CCK (pmol/l)	17.4±2.00	16.7±1.47	19.2±2.1
VIP (pmol/l)	12.6±0.88	11.5±0.83	5.2±0.28

Mindhárom csoportban (kontroll, placebo, olanzapine) az éhgyomri CCK és VIP plazma koncentráció értékek vonatkozásában eltérést nem találtunk. Étkezés hatására a CCK koncentrációk mindhárom csoportban átlagosan 15-szeresre emelkedtek és az egyes csoportok között a megemelkedett értékek szignifikáns eltérést nem mutattak. A VIP esetében a „kontroll” és a „placebo” csoportnál a plazma koncentráció emelkedés mintegy 5-szörös volt, ugyanakkor az „olanzapine” csoport esetében szignifikánsan kisebb növekedést mértünk, (csak 2-szeres volt az emelkedés). Eredményünk azt jelzi, hogy már az olanzapine egyszeri bevitele is lényeges befolyással van az étkezés hatására bekövetkező VIP felszabadulásra, ugyanakkor a CCK felszabadulását nem befolyásolja. A felszabaduló és keringésbe jutó VIP csökkenése az olanzapine csoport egyéneinél a bél motilitás csökkenését, valamint a táplálék felszívódásának változását eredményezheti (Literati-Nagy et al. 2013).

RIA módszerek kifejlesztése:

GLP-1 RIA: A GLP-1 több molekuláris formában fordul elő a szervezetben, amelyek C-terminális vége azonos. RIA módszer: Antiszérum: C-terminális érzékenyséű antiszérumot nyulak immunizálásával termeltük BSA-GLP-1 (19-37) antigén sc. adásával. Tracer: ¹²⁵I izotóppal jelölt Tyr-GLP-1 (19-37) volt. Standard: Tyr-GLP-1 (19-37) a 0-1000 fmol/ml közötti koncentráció tartományban. Puffer: 0,05 mol/l (pH: 7,4) foszfát-puffer, amely NaCl-t, BSA-t és NaN₃-t is tartalmazott. Kivitelezése: 100 µl antiszérumot, 100 µl RIA tracert, 100 µl Tyr-GLP-1 (19-37) standardot, ill. ismeretlen mintát mértünk be annyi pufferhez, hogy a végtérfogat 1 ml legyen. 48 órás, 4 °C-on végzett inkubálás után az antitestekhez kötődött és szabadon maradó hormonfrakciókat 100 µl szenes szeparáló szuszpenzió hozzáadásával, ezt követő centrifugálással elválasztottuk. Az üledék radioaktivitását megmérve az ismeretlen minta GLP-1 koncentrációját kalibrációs görbe segítségével határoztuk meg (Lelesz at al. 2013).

Oxyntomodulin RIA: Az oxyntomodulin azonos a preproglucagon 33-69 peptiddel. Specifikus RIA kifejlesztéséhez olyan ellenanyagot kellett termelnünk, amely nem méri a glucagont, a preproglucagon 33-61 peptidet. RIA módszer: Antiszérum: a C-terminális érzékenyséű antiszérumot BSA-oxyntomodulin (23-37) antigén adásával nyulakban termeltük. Tracer: ¹²⁵I-Tyr-oxyntomodulin (23-37). Standard: Tyr-oxyntomodulin (23-37) a 0-1000 fmol/ml közötti koncentráció tartományban. A puffer és kivitelezés azonos a korábbival (Németh at al 2011).

GIP RIA: RIA módszer: Antiszérum: a C-terminális érzékenyséű antiszérumot nyulakban termeltük BSA-GIP (27-42) antigén adásával. Tracer: ¹²⁵I-Tyr-GIP (27-42). Standard: Tyr-GIP (27-42) a 0-1000 fmol/ml közötti koncentrációban. A puffer és kivitelezés azonos a korábbiakkal (Németh at al 2011).

Thrittene RIA: A közelmúltban azonosított thrittene neuropeptid azonos a somatostatin-28 (1-13)-al. RIA módszer: Antiszérum: a C-terminális érzékenyséű antiszérumot BSA-thrittene antigén adásával nyulakban termeltük. Tracer: ¹²⁵I-Tyr(0)-thrittene. Standard: Tyr(0)-thrittene a 0-1000 fmol/ml közötti koncentráció tartományban. A puffer és kivitelezés azonos a korábbival ((Németh at al 2010, Fürjes et al. 2012).

Corticosterone RIA: Az ellenanyagot, valamint a tríciummal (³H) jelölt tracert a kereskedelmi forgalomból szereztük be. A RIA működési körülményeit magunk határoztuk meg. Mérés β-counterrel történt (Lendvai et al. 2013).

OTKA (75965) támogatott közlemények:

Peitl B., Döbrönte R., Németh J., Pankucsi Cs., Sári R., Varga A., Szilvássy Z.:
Meal-induced enhancement in insulin sensitivity is not triggered by hyperinsulinemia in rats.
Metabolism Clin. Exp. 58: 328-332, 2009. (IF: 2.588)

Peitl B., Döbrönte R., Drimba L., Sári R., Varga A., Németh J., Pázmány T., Szilvássy Z.:
Involvement of cholecystokinin in baseline and post-prandial whole body insulin sensitivity in rats.
Eur. J. Pharmacol. 644: 251-256, 2010. (IF: 2.737)

Bajza A., Németh J., Peitl B., Szilvássy Z.:
Block by nitrate tolerance of meal-induced insulin sensitization in conscious rabbits.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 58: 508-513, 2011. (IF: 2.406)

Szilvássy Z., Németh J., Kovács P., Paragh Gy., Sári R., Vígh L., Peitl B.:
Insulin resistance occurs in parallel with sensory neuropathy in streptozotocin-induced diabetes in rats: differential response to early vs late insulin supplementation.
Metabolism 61: 776-786, 2012. (IF: 2.664)

Drimba L., Hegedüs Cs., Yin D., Sári R., Németh J., Szilvássy Z., Peitl B.:
Beneficial cardiac effect of cicletanine in conscious rabbits with metabolic syndrome.
J. Cardiovasc. Pharmacol. 60: 208-218, 2012. (IF: 2.287)

Drimba L., Németh J., Sári R., Yin D., Kovács A., Szénási G., Szilvássy Z., Peitl B.:
In vivo preclinical evaluation of a promising antiarrhythmic agent, EGIS-7229.
Drug. Develop. Res. (*in press*) 2013 (IF: 1.193)

Drimba L., Döbrönte R., Hegedüs Cs., Sári R., Yin D., Németh J., Szilvássy Z., Peitl B.:
The role of hyperinsulinemia in the development of cardiac arrhythmias.
Eur. J. Pharmacol. (*submitted*) (IF: 2.516)

Literati-Nagy B., Lelesz B., Kovacs P., Peitl B., Lonovics J., Németh J., Szilvássy Z.:
Post-prandial increase in blood level of gut hormones in obesity. The modifying effect of atypical antipsychotics.
Eur. J. Clin. Invest. (*közlésre előkészítve*) 2013. (IF: 3.018)

Németh J., Fürjes G., Tóth A., Peitl B., Sári R., Pórszász R., Szilvássy Z.:
Description and application of the thrittene radioimmunoassay.
Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 107: 488, 2010. (IF: 2.371) (*abstract*)

Németh J.:
Development of radioimmunoassay (RIA) method for measurement of neuropeptid content.
Acta Physiol. 202: 87, 2011. (IF: 3.090) (*abstract*)

Fürjes G., Tóth G.K., Peitl B., Pórszász R., Lelesz B., Sári R., Tóth A., Szilvássy Z., Németh J.:
Thrittene radioimmunoassay: description and application of a novel method.
J. Radioanal. Nucl. Chem. 292: 113-118, 2012. (IF: 1.520)

Lendvai Á.Z., Giraudeau M., Németh J., Bakó V., McGraw K.J.:
Carotenoid-based plumage coloration reflects feather corticosterone levels in male house finches (*carpodacus mexicanus*).
Behav. Ecol. Soc. (*in press*) 2013. (IF: 3.179)

Lelesz B., Tóth G.K., Peitl B., Drimba L., Hegedűs Cs., Sári R., Lampé Zs., Szivássy Z., Németh J.:
Description and application of a novel glucagon-like peptide-1 radioimmunoassay.
J. Radioanal. Nucl. Chem. (*közlésre előkészítve*) 2013. (IF: 1.520)

Varhalmi E., Somogyi I., Kiszler G., Nemeth J., Reglodi D., Lubics A., Kiss P., Tamas A., Pollak E., Molnar L.:
Expression of PACAP-like compounds during the caudal regeneration of the earthworm *Eisenia fetida*.
J. Mol. Neurosci. 36: 166-174, 2008. (IF: 2.061)

Borzsei R., Mark L., Tamas A., Bagoly T., Bay Cs., Csanaky K., Banki E., Kiss P., Vaczy A., Horvath G., Nemeth J., Szauer E., Helyes Zs., Reglodi D.:
Presence of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-38 in human plasma and milk.
Eur. J. Endocrinol. 160: 561-565, 2009. (IF: 3.539)

Somogyi I., Boros A., Engelmann P., Varhalmi E., Nemeth J., Lubics A., Tamas A., Kiss P., Reglodi D., Pollak E., Molnar L.:
Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-like compounds could modulate the activity of coelomocytes in the earthworm.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1163: 521-523, 2009. (IF: 2.670)

Brubel R., Boronkai A., Reglodi D., Racz B., Nemeth J., Kiss P., Lubics A., Toth G., Horvath G., Varga T., Szogyi D., Fonagy E., Farkas J., Barakonyi A., Bellyei Sz., Szereday L., Koppan M., Tamas A.:
Changes in the expression of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the human placenta during pregnancy and its effects on the survival of JAR choriocarcinoma cells.
J. Mol. Neurosci. 42: 450-458, 2010. (IF: 2.922)

Reglodi D., Gyarmati J., Ertl T., Borzsei R., Bodis J., Tamas A., Kiss P., Csanaky K., Banki E., Bay Cs., Nemeth J., Helyes Zs.:
Alterations of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-like immunoreactivity in the human plasma during pregnancy and after birth.
J. Endocrinol. Invest. 33: 443-445, 2010. (IF: 1.476)

Czegledy L., Tamas A., Borzsei R., Bagoly T., Kiss P., Horvath G., Brubel R., Nemeth J., Szalontai B., Szabadfi K., Javor A., Reglodi D., Helyes Zs.:
Presence of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in the plasma and milk of ruminant animals.
Gen. Comp. Endocrinol. 172: 115-119, 2011. (IF: 3.267)

Szanto Z., Sarszegi Zs., Reglodi D., Nemeth J., Szabadfi K., Kiss P., Varga A., Banki E., Csanaky K., Gaszner B., Pinter O., Szalai Zs., Tamas A.:
PACAP immunoreactivity in human malignant tumor samples and cardiac diseases.

J. Mol. Neurosci. 48: 667-673, 2012. (IF: 2.504)

Tuka B., Helyes Zs., Markovics A., Bagoly T., Németh J., Márk L., Brubel R., Reglódi D., Párdutz Á., Szolcsányi J., Vécsei L.:

Peripheral and central alterations of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-like immunoreactivity in the rat in response to activation of the trigeminovascular system.

Peptides 33: 307-316, 2012. (IF: 2.434)

Gyires K., Németh J., Zádori Z.S.:

Gastric mucosal protection and central nervous system.

Curr. Pharmac. Design (*in press*) 19: 000-000, 2013 (IF: 3.870)

Gyires K., Rónai A.Z., Németh J., Szekeres M., Zádori Z.S., Hunyady L.:

Angiotensin II-induced activation of central AT₁ receptors exerts endocannabinoid-mediated gastroprotective effect in rats.

Neuropharm. (submitted) 2013. (IF: 4.814)

Szabadalmi bejelentés:

Szilvássy Z., Peitl B., Németh J.:

Szájon át adható inzulin gyógyszerkészítmény.

P 09 00482/2009 (Magyarország)

Szilvássy Z., Peitl B., Németh J.:

Orally administerable pharmaceutical preparation containing insulin.

PCT/IB2010053499 (European Patent Office)