# A KRÓM (III)-IONOK ÉS A DIABETES

Ph.D. értekezés

Dr. Keszthelyi Zsuzsanna
Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
I.sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Mózsik Gyula egyetemi tanár
Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Pécs

2005.

# TARTALOMJEGYZÉK

**TARTALOMJEGYZÉK** ..... **2**

**ÁBRAJEGYZÉK** ..... **5**

**TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE** ..... **6**

**RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE** ..... **7**

**1. BEVEZETŐ** ..... **8**

**2. IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ** ..... **11**

***2.1. A KRÓM BIOLÓGIAI SZEREPE*** ..... ***11***

2.1.1. A króm feltételezhető hatásai ..... 13

***2.2. A KRÓM FELSZÍVÓDÁSA*** ..... ***14***

***2.3. KIVÁLASZTÁS*** ..... ***14***

***2.4. TOXICITÁS*** ..... ***14***

***2.5. GENETIKAI FAKTOROK*** ..... ***15***

***2.6. A KRÓM PIKOLINÁT BEVITEL HATÁSA A TESTFELÉPÍTÉSRE*** ..... ***16***

***2.7. BIOLÓGIAILAG AKTÍV KRÓM OLIGOPEPTID (LMWCr)*** ..... ***17***

***2.8. A KRÓM TÁPLÁLÉKKAL TÖRTÉNŐ BEVITELE, A BEVITT KRÓMMENNYISÉG BECSLÉSÉNEK LEHETŐSÉGE*** ..... ***18***

***2.9. A KRÓM ÉS A GLÜKÓZTOLERANCIA*** ..... ***19***

***2.10. A CUKROK INZULINOGÉN TULAJDONSÁGAI ÉS A VIZELETTEL VESZÍTETT KRÓM*** ..... ***21***

***2.11. A KRÓM ÉS AZ INZULIN INTERAKCIÓJA*** ..... ***22***

***2.12. A KRÓM BIOLÓGIAILAG AKTÍV FORMÁI*** ..... ***23***

***2.13. A KRÓM ÉS A NUKLEINSAVAK*** ..... ***25***

***2.14. TÁPLÁLKOZÁSI TÉNYEZŐK SZEREPE A GLÜKÓZ-INZULIN RENDSZERBEN*** ..... ***25***

2.14.1. A táplálékkal a szervezetbe kerülő króm szerepe ..... 25

2.14.2. diétával kombinált, krómélesztő és a króm-pikolinát kezelés hatása a testösszetételre túlsúlyos, nem diabeteses betegeknél ..... 26

*2.15. AZ INZULINRECEPTOR BIOLÓGIÁJA* ..... *26*

**3. CÉLKITŰZÉSEK** ..... **28**

**4. KÍSÉRLETI ÉS VIZSGÁLATI RÉSZ** ..... **29**

*4.1. IN VITRO VIZSGÁLATOK (PILOT STUDY)* ..... *29*
4.1.1. A modellvegyület és rendszer kiválasztása ..... 29

4.1.2. Anyagok és módszerek ..... 31

4.1.3.Vizsgálat ..... 33

Eredmények ..... 34

4.1.5. Megbeszélés ..... 51

*4.2.ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK* ..... *56*
4.2.1. A streptozotocin (STZ) ..... 56

4.2.2. Az STZ hatása a perifférián ..... 57

4.2.3. Centrális streptozotocin-diabetes modell ..... 57

4.2.4. A táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozása ..... 58

*4.3. A KRÓM ADAGOLÁS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA 2-ES TÍPUSÚ CUKORBETEGSÉGBEN SZENVEDŐ EGYÉNEKBEN* ..... *75*
4.3.1. A VIZSGÁLAT KEZDEMÉNYEZÉSÉNEK ELŐZMÉNYEI ..... 75

4.3.2. VIZSGÁLATI TERV ÉS ANNAK KIVITELEZÉSE ..... 77

4.3.3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK ..... 80

4.3.4. KÖVETKEZTETÉSEK ..... 86

**5. ÖSSZEFOGLALÁS** ..... **87**

**6. FELHASZNÁLT IRODALOM** ..... **88**

**7. AZ ÉRTEKEZÉSHEZ FELHASZNÁLT SZABADALMAK** ..... **108**

**7. SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE** ..... **109**

*TUDOMÁNYOS DOLGOZATOK (CIKKEK):* ..... *109*

*ELŐADÁSOK* ..... *HIBA! A KÖNYVJELZŐ NEM LÉTEZIK.*

*IDÉZHETŐ ABSZTRAKTOK* ..... *112*

*SZABADALOM* ..... *114*

*OKTATÓ FILM* ..... *114*

**9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS ..... 115**

# ÁBRAJEGYZÉK

1. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 40
2. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 40
3. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 41
4. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 41
5. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 42
6. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 42
7. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 43
8. **ÁBRA** A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 43
*9*. ÁBRA **A** A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 44
*10*. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 45
11. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 45
12. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 46
13. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 46
14. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 47
15. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 47
16. ÁBRA A GLÜKÓZFOGYASZTÁS IDŐFÜGGVÉNYE ..... 48
*17*. ÁBRA A SEJTEK INZULINKONCENTRÁCIÓJÁNAK VÁLTOZÁSA AZ IDŐ FÜGGVÉNYÉBAN, A KÜLÖNBÖZŐ ÖSSZETÉTELŰ MINTÁK ESETÉN ..... 50
18. ÁBRA. A STREPTOZOTOCIN ÉS A D-GLÜKÓZ MOLEKULA KÉMIAI SZERKEZETE ..... 57
19. ÁBRA KONTROLL OGTT. A 0. PERCEBEN KAPTÁK AZ ÁLLATOK A GLÜKÓZT ..... 64
***20***. ÁBRA AKUT OGTT (* = SZIGNIFIKÁNS KÜLÖNBSÉG) ..... 70
21. ÁBRA KRÓNIKUS OGTT (* = SZIGNIFIKÁNS ELTÉRÉS) ..... 71
***22***. ÁBRA. INTRAPERITONEÁLIS INZULIN KIVÁLTOTTA TÁPFELVÉTEL ..... 72
23. ÁBRA. A TÁPFELVÉTEL MÉRÉSEKKEL PÁRHUZAMOSAN VÉGZETT VÉRCUKORMÉRÉSEK ..... 72
***24***. ÁBRA. INZULIN ÉS LEPTIN PLAZMASZINTEK A HÁROM CSOPORTBAN ..... 73
25. ÁBRA. AZ ÉHGYOMRI VÉRCUKORSZINTEK VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 82
*26*. ÁBRA. A FRUKTÓZAMIN SZINTEK VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 82
*27*. ÁBRA. HGBA1C SZINTEK VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 83
*28*. ÁBRA. SZÉRUM KOLESZTERIN SZINTEK VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 83
*29*. ÁBRA. SZÉRUM TRIGLICERID SZINTEK VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 84
30. ÁBRA. SZÉRUM HDL KOLESZTERIN SZINT VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAP ALATT ..... 84
31. ÁBRA. SZÉRUM HDL/ÖSSZKOLESZTERIN SZINT ARÁNY VÁLTOZÁSA A VIZSGÁLT HAT HÓNAPBAN ..... 85

# TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

1. TÁBLÁZAT. A KÜLÖNBÖZŐ OLDATOK ALKALMAZOTT MENNYISÉGEI ML -BEN (MINTÁK ÖSSZETÉTELE) AZ EGYES TESZTCSÖVEKBEN ..... 33

2. TÁBLÁZAT. AZ EGYES MINTAÖSSZETÉTELEK ESETÉN A VIZSGÁLAT IDŐTARTAMA ALATT ÉSZLELT GLÜKÓZ FOGYASZTÁSOK IDŐ SZERINTI INTEGRÁLJAI SE -IONOK JELEN, ILL. TÁVOLLÉTÉBEN ..... 44

3. TÁBLÁZAT. AZ EGYES MINTAÖSSZETÉTELEK ESETÉN A VIZSGÁLAT EGYES IDŐINTERVALLUMAI ALATT ÉSZLELT GLÜKÓZ FOGYASZTÁSOK IDŐ SZERINTI INTEGRÁLJAI SE -IONOK JELEN, ILL. TÁVOLLÉTÉBEN ..... 49

4. TÁBLÁZAT AZ EGYES MINTAÖSSZETÉTELEK ESETÉN A VIZSGÁLAT EGYES IDŐPONTJAIBAN ÉSZLELT INZULINKONCENTRÁCIÓ - IDŐ FÜGGVÉNYEK IDŐ SZERINTI HATÁROZOTT (0 - 180 MIN) INTEGRÁL ÉRTÉKEI SE -IONOK JELEN, ILL. TÁVOLLÉTÉBEN ..... 51

# RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

| | |
|---|---|
| AIR | - acut inzulinszekréciós válasz |
| BCI | -body composition improvement index (testösszetétel-javulás index) |
| BMI | -body mass index (testtömeg-index) |
| CCK | -kolecisztokinin |
| Cr-$(pic)_2$ | -króm-pikolinát |
| Cr-$(pic)_3$ | -króm-pikolinát |
| FFA | -free fatty acid |
| FFM | -zsírmentes testtömeg |
| GABA | -gamma-amino-vajsav |
| GIS | -glükóz inszenzitív sejt |
| GM | -glükózmonitorozó |
| GR | -glükóz receptor sejt |
| GLUT2 | -glükóz facilitatív transzporter 2 |
| GS | -glükóz szenzitív sejt |
| GTF | -glükóz tolerancia faktor |
| HDL | -high density lipoprotein (magas denzitású lipoprotein) |
| HT | -hipotalamusz |
| LDL | -low density lipoprotein (alacsony denzitású lipoprotein) |
| LHA | -laterális hipotalamusz área |
| LMWCr | -alacsony molekulasúlyú króm |
| NAD | -nikotinamid-adenin-dinukleotid |
| NIDDM | -nem inzulindependens diabetes mellitus |
| NPY | -neuropeptid Y |
| NTS | -nukleus traktus solitarii |
| OGTT | -orális glükóz-tolerancia teszt |
| PARP | -poli(ADP-ribóz)polimeráz |
| STZ | -streptozotocin |
| VMH | -ventromedialis hipotalamusz mag |
| VLDL | -very low density lipoprotein |

# 1. BEVEZETŐ

Az iparosodott országokban, így hazánkban is egyre nő a 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek száma. A betegek többsége már a felismerés pillanatában inzulinrezisztens, hiperinzulinémiás, illetve dislipidémiás, kardio-és vaszkuláris betegségben szenved.

Az inzulinrezisztencia olyan állapot, amikor a normális mennyiségű inzulin a normálistól eltérő, csökkent választ vált ki. Ez lehet kompenzált, amikor a β sejtek inzulin termelése fokozott, ill. lehet dekompenzált, amikor már hiperglikémia van jelen. A szekunder hiperinzulinémia miatt hiperlipidémia, hiperglikémia, hipertónia és az endotélsejtek elváltozása alakul ki. 2-es típusú diabetesre jellemző, hogy 35-40 %-al csökken az egész test glükózfelhasználása, melynek oka az izomszövet glikogénképzésében és az itt folyó glükózoxidáció csökkenésében keresendő. Így a fölös cukor laktáttá alakul, amely a májbeli glikoneogenezis szubsztrátja, és a Kori-körön keresztül egyik oka a máj fokozott glikogén szintézisének. A krónikus hiperglikémia idején a szervezet védekezik a túlzott cukorfelvétel ellen, csökken az inzulin stimulálta cukorfelhasználás. Ismert, hogy cukorbetegekben az alacsonyabb cukorfelvétel csaknem egészéért a csökkent glikogénszintézis felelős.

2-es típusú cukorbetegekben a perifériás inzulinrezisztencia és a β-sejtek károsodása már a betegség manifesztációja előtt kimutatható, és a hiperglikémia önmagát rontó folyamatként tovább súlyosbítja az inzulinrezisztenciát és kimerítheti a β sejteket. A diabeteses betegekben általában az egészséges egyénekben mérhető szintekhez képest magasabb a triglicerid és a szabadzsírsavak (Free Fatty Acids, FFA) szintje. A magasabb FFA szint az inzulinrezisztencia nyilvánvaló jele. Ez önmagában is inzulin-szekretalóg, vagyis ha emelkedik a szintje, gátolja a glükóz stimulálta inzulinszekréciót, a glükokináz, foszfofruktokináz enzimet és a glükózoxidációt.

A β sejtek cukorérzékelő és az inzulinválaszt adó képességét a cukoradást követő korai inzulinválasz jelzi, amennyiben nem áll fenn 2-es típusú diabetes mellitus. Az éhgyomri vércukor növekedésével romlik az inzulinválasz, vagyis feltételezhető, hogy a „cukorérzékelő rendszer” érzékenysége csökken, „downregulálódik”, glükózrezisztencia alakul ki.

Elképzelhető az a lehetőség is, hogy a primér ok a nervus vagus közvetítette hiperinzulinizmus, amely talán centrális (hipotalamikus) lézió következtében, genetikus prediszpozíció talaján alakul ki. Az elsődleges hiperinzulinizmus ellen a szövetek védekeznek, a hipoglikémiát kivédve inzulinrezisztenssé válnak. Az inzulinrezisztencia

azután jelentős testsúlygyarapodáshoz vezet. Mind a paraszimpatikus rendszer hiperreaktivitásának, mind a szimpatikus idegrendszer csökkent működésének alapvető szerepe lehet. Ez az idegrendszeri regulációs zavar a hipotalamusz-hipofízis tengely aktiválása útján hozzájárulhat a centrális obezitáshoz, és az inzulinrezisztenciához.

A 2-es típusú diabetes mellitus heterogén betegségcsoport, amelyben a hiperglikémia egyfelől a glükóz hatására bekövetkező csökkent fokú inzulin szekréció révén jön létre, másfelől az inzulin kisebb hatékonysággal növeli a vázizomzat glükózfelvételét, fékezve a máj glükóztermelését (inzulin rezisztencia). Az inzulinrezisztencia gyakori, ennek ellenére nem mindig alakul ki diabetes, mivel a szervezet az inzulin szekréció fokozásával megfelelő kompenzációra képes. A 2-es típusú diabetes mellitus gyakori változatában az inzulin rezisztencia nem az inzulin receptor vagy a glükóz transzporter genetikai változásának eredménye, hanem kialakulásában valószínűleg szerepet játszanak a receptor utáni intracelluláris jelátvitel genetikailag meghatározott defektusai is. Az állandósult hiperinzulinémia következményeként egyéb gyakori kórképek is társulnak, mint pl. abdominális elhízás, hipertenzió, hiperlipidémia és koszorúér megbetegedés (inzulin rezisztencia szindróma).

## A 2-ES TÍPUSÚ DIABETES MELLITUS ÁLTALÁNOS JELLEMZŐI

- Életkor tekintetében általában 30 év fölötti kezdet,
- Ketoacidózisra való hajlam nincs,
- Az endogén inzulinszekréció jelentősen növekszik,
- Nincs specifikus HLA antigénekkel való társulás,
- Szigetsejt ellenes antitestek nincsenek,

Szigetsejt patológia:

- Kisebb, de normálisnak tűnő Langerhans szigetek,
- Amyloid lerakódása gyakori.

## A KRÓM (III) VEGYÜLETEK SZEREPE A 2-ES TÍPUSÚ DIABETES MELLITUS PATHOLÓGIÁJÁBAN

Már évtizedek óta folynak vizsgálatok arra nézve, hogy a króm (III) ionok milyen szerepet töltenek be a glükóz-metabolizmusban és a 2-es típusú diabetes mellitus megelőzésében, illetve a króm pótlásával megelőzhető vagy kezelhető-e a cukorbetegség

bizonyos fajtája, ahol a krómnak, mint nyomelemnek a hiánya feltételezhető a betegség kialakulása hátterében.

Értekezésemben kitérek a króm feltételezett biológiai szerepére, utalok az irodalomban leírt fontosabb kutatási eredményekre, részletezem munkám során végzett in vitro és állatkísérletes vizsgálatok eredményét, illetve a humán vizsgálatok során tett megfigyeléseket.

# 2. IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ

## 2.1. A KRÓM BIOLÓGIAI SZEREPE

A króm 24-es atomszámú, a periódusos rendszer VI. B. csoportjába tartozik. Olyan elemek veszik körül, mint a vanádium, magnézium és a molibdén, melyek biológiai hatása többnyire ismert. A három vegyértékű króm a legstabilabb oxidációs állapotú, erőteljesen hajlamos összetett vegyületek, komplexek és kelátok képzésére. Biológiai szerepe a krómvegyületeknek nem ismert teljesen, de kapcsolatban van elektromos töltésükkel. Lehetnek neutrális molekulák, pozitív és negatív töltésű ionos vegyületek. A cisz és a transz izoméria jelentőséggel bírhat, amelynek szerepe szintén nem ismert.(Anderson és mtsai, 2001, Krzanowski, 1996).

### Környezeti tényezők

Végeztek kutatásokat arra nézve is, hogy nagyobb földrajzi egységek vonatkozásában a talaj, a vizek és a levegő átlagos krómtartama korrelál-e az ott élő lakosság szervezetében megfigyelhető krómszintekkel. Csak speciális körülmények között sikerült kimutatni, hogy a vizsgált vizek krómkoncentrációja korrelált a diagnosztizált humán króm deficienciával.

Mérték a levegőben és a tüdőben lévő krómtartalmat is. A tüdőbe kerülő vízoldékony krómvegyületek gyorsan a keringésbe és egyéb szervekbe vándorolnak, az intracelluláris felhasználást követően. A vízoldékony három vegyértékű króm-klorid ezzel szemben nem vándorol. Feltételezik, hogy a levegőből a tüdőbe kerülő króm ( a három vegyértékű is) visszamarad a tüdőben. Csak a vízoldékony, hat vegyértékű króm képes bejutni a szervekbe.

Különböző talajmintákban is megmérték a króm szintjét. A króm, mint sok más elem elősegíti a fiatal növények és oltványok növekedését és fejlődését, növeli a termést, valamint a gyümölcsök cukortartalmát. Megjegyezni kívánom, hogy az előbbiekben tárgyalt növényélettani vizsgálatok során tett megfigyelések csak három vegyértékű krómot tartalmazó vegyületekre vonatkoztak (Chema és mtsai, Hopkins és mtsai, 1968, Hunt és mtsai, 1996, Mishra és mtsai, 1995, Vincent és mtsai, 2000).

## Megoszlása a szervezetben

Az emberi szervek analízise során az emberi test átlagos krómkoncentrációjához képest sok krómot találtak a szívben, az agyban, különösen a nucleus caudatusban. A hajban szintén magas a krómtartalom. Az életkor is befolyásolja a krómtartalmat az emberi szövetekben, különösen az agyszövetben. A króm a különböző szervekben nagy koncentrációban fordul elő az élet első hetében. Ez az érték konstans marad a vesében, a májban 10 éves korig, majd csökken. Az aortában, szívben, lépben ez a csökkenés az első hónapban megtörténik, és ez az alacsonyabb szint eltart az élet végéig.

Néhány szervben folyamatosan csökken az értéke. Ez alól kivétel a tüdő, ahol a hanyatlás 20 éves korig tart, majd egy állandó növekedés figyelhető meg idős korig. A króm az egyetlen ismert elem, amelynek szintje csökken a legtöbb szervben a kor előrehaladtával.

A plazmában lévő alacsonyabb króm szint az alacsony króm felvételnek (táplálék) köszönhető, de nem jelent feltétlenül króm hiányt. A plazma króm szintje nagyon gyorsan változik, ez azonban nincs összefüggésben a szervezet króm raktárával, főleg a felvételt tükrözi (Anderson és mtsai 1985, Granadillo és mtsai, 1994, Hinsberg és mtsai, 1957, Mertz és mtsai, 1998).

Korábban leírták, hogy a króm akkumulálódik a tumorokban. Szignifikáns emelkedést tapasztaltak a májban akut lymphoid leukémia kapcsán, ezzel szemben a leukémiás betegek veséjében csökkent az értéke. Csökkent króm szintet találtak a hajban diabeteses gyermekeknél, a nem cukorbeteg gyerekekkel összehasonlítva (Davies és mtsai, 1997, Bahadori és mtsai, 1997).

## Élettani hatása

Ismert, hogy a krómhiány hiper- és hipoglikémiát is okozhat. Ezen kórképek kezelése krómmal valószínűleg az inzulin hatás normalizálásán alapul. Az inzulin hatásának potencírozása miatt kevesebb inzulinra van szükség, ezért az emelkedett szérum inzulinszintek is csökkennek 2-es típusú diabetesben. Néhány 2-es típusú diabeteses betegnél valószínűleg krómhiány is szerepet játszik a betegség kialakulásában. Ez részben azzal hozható összefüggésbe, hogy a többlet szénhidrát fogyasztásakor több króm választódik ki a vesén keresztül, de szerepe lehet a krómbevitel elégtelenségének is. Több feltételezés van azzal kapcsolatban, hogy milyen a króm és az inzulin interakciója.

Egyik feltételezés alapján a króm az inzulin molekulát konformáció változtatásra készteti, stabilizálja, megváltoztatva annak receptorkötését.

Hathat az inzulinreceptoron keresztül úgy is, hogy a tirosin-kináz aktivitást fokozza.

A krómtartalmú agens biológiailag aktív formája a króm mellett nikotinsavat és aminosavakat tartalmaz. Napi szükséglet 50-200 µg. Jelenleg ismert, hogy a táplálkozással bevitt króm mennyisége nem optimális (Cefalu, 1998, Cunningham és mtsai, 1998).

### 2.1.1. A KRÓM FELTÉTELEZHETŐ HATÁSAI

1. Alacsony molekulasúlyú anyagokon keresztül hat az anyagcserére (pirofoszfát, metionin, szerin, glicin, leucin, lisin, prolin),
2. Enzim aktivitás regulálásán keresztül,
   - a cytokróm C dehidrogenáz rendszerben,
   - foszfoglukomutáz kofaktoraként, magnézium hiány esetén, a króm képes átvenni annak szerepét,
3. A proteinek struktúráját megváltoztathatja,
4. Nukleinsavak: a DNS, RNS metabolizmusban, mutagén hatása is lehet,
5. Baktériumok: néhány baktériumtörzs szaporodását gátolják a krómvegyületek,
6. Vörösvértestek: a krómvegyületek nagy affinitással kötődnek a vörösvértestekhez (penetrálnak az erythrocyta membránjához),
7. Glükóz tolerancia faktor.

## Glükóz tolerancia faktor

Egy olyan krómtartalmú szerves vegyület, amely a normál glükózháztartás fenntartásához szükséges. Ezt a komplexet először a sörélesztőből mutatták ki és onnan is izolálták. A legtöbb három vegyértékű krómvegyületnek, a nagyon stabil vegyületek kivételével, körülbelül egyforma aktivitásuk van a glükóz metabolizmusban. A króm szerves vegyület formájában az élelmi anyagok közül a legnagyobb mennyiségben az élesztőben található. A króm hatása szorosan összefügg az inzulinaktivitással. Ezért a krómraktárak csökkenése esetén kezdetben csökkent glükóztoleranciát, később diabetes mellitus kialakulását figyelhetjük meg. Ezen kívül a krómhiány késlelteti a növekedést, csökkenti a glikogén tartalékot, növeli az artériákban a léziók kialakulását, és módosítja az aminosavak felhasználását a fehérje szintézisben (Anderson és mtsai,1983, Bahiriji és mtsai, 2000, Browm és mtsai, 1986, Evans és mtsai, 1973, 1989, 1993, Lee és mtsai, 1994, Liam és mtsai, 2000, Mirsky, 1993, Potter és mtsai, 1985, Wise, 1978).

## 2.2. A KRÓM FELSZÍVÓDÁSA

A három vegyértékű króm kis mértékben abszorbeálódik a gasztrointesztinális traktusból, és így a bélrendszer a króm széklet útján történő exkréciójában is szerepet játszik. A duodénumból a vas felszívódásához hasonlóan klatrin burkú csapdákba csoportosulva szívódik fel. A klatrin egy fehérje, mely a legtöbb állati sejtben megtalálható. A klatrin burkú csapdák megfelelően biztosítják a molekulák felvételét az extracelluláris folyadékból. Ezt a receptor mediálta folyamatot endocytozisnak hívjuk. A klatrin az endocytozis hatékonyságát kb. ezerszeresére növelheti. A klatrin 3 nehéz és 3 könnyű láncból álló fehérje, a láncok nem kovalens kötésekkel vannak összekötve, úgy, hogy szimmetrikus térszerkezet alakul ki.

A gyomor pH-ja is szerepet játszik a felszívódásban, az alacsony pH-jú gyomorsav elősegítheti a króm redukcióját.

Felszívódását a táplálék jelenléte is befolyásolja. A táplálék alkotói mind megkötni, mind redukálni is képesek a háromértékű króm ionokat. A táplálékban kötött formában található króm biológiai hozzáférhetősége általában nagyobb, mint az egyszerű anorganikus formában adagolt krómvegyületeké.

A napi bevitt króm mennyiségének legalább 270 µg-nak kell lenni ahhoz, hogy kompenzálja a veszteséget. Normál étrend mellett 78 µg a napi króm felvétel. A szuboptimális felvétel oka többek között a túlfinomított ételek fogyasztásának elterjedése, illetve a mezőgazdasági termelés intenzifikálása lehet (Anderson és mtsai, 1983, Hopkins és mtsai, 1968, Hubner és mtsai, 1994, Kerger és mtsai, 1996, Lim és mtsai, 1983, Mahdi és mtsai, 1994, Mayer 1955, Porter és mtsai, 1999, Stoecker és mtsai, 1998).

## 2.3. KIVÁLASZTÁS

A króm kiválasztása a vizelettel (80%) és a fécesszel történik. A vesékben 63 %-a reabszorbeálódik a tubulus filtrátumból, ezért aránylag magas a krómkoncentráció a vesékben. Átlagos napi kiválasztott króm mennyiség 7-8 µg(Anderson és mtsai, 1985, 1988, Cihad és mtsai, 1978, Lim és mtsai, 1983, Polansky és mtsai, 1998, Stoecker és mtsai, 1998).

## 2.4. TOXICITÁS

A hatértékű króm-ion gyorsan penetrál a sejtmembránon keresztül, erős oxidáló ágens. A hatos vegyértékű krómnak nagyobb a toxicitása, mint a három vegyértékű krómnak. Megfigyelték, hogy krómmal dolgozóknál akut és krónikus respiratorikus betegségek

előfordulása gyakoribb. Az orrsövényben ulkuszt és perforációt is leírtak, továbbá rinitisz, szinuszitisz, laringitisz, asztma, akut pneumonitisz, bronhus karcinoma is előfordulhat. A krónikus expoziciót elszenvedő egyéneknél gyulladásos betegségek és ulkus is gyakran fordul elő a gasztrointesztinális traktusban.

A vízoldékony három vegyértékű krómnak alacsony a toxicitása. A hat vegyértékű króm viszont jobban szívódik fel a gasztrointesztinális traktusból, mint a három vegyértékű. Fiziológiás körülmények között sziderofillinhez kötve reabszorbeálódik a szövetekbe. Az egyes szervek és szövetek krómhoz való affinitása (raktározó képessége) változó, így a herék, csontok, máj, lép affinitása nagy, az izomé és az agyé kisebb (McCarty, 1998, Stoecker és mtsai, 1998, O'Flaherty és mtsai, 1996).

## 2.5. GENETIKAI FAKTOROK

A 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásában feltehetően genetikai faktorok is szerepet játszanak, melyek jelenleg még nem ismertek. A mexikói amerikaiak különösen predisponáltak a 2. típusú diabetes mellitus kialakulására a genetikai faktorok miatt, melyek főleg az android típusú elhízásban játszanak szerepet. A betegeknél a modern életstílus a fő ok a diabetes mellitus kialakulásában. A bioaktív króm (króm-pikolinát), a sörélesztő, az oldható rostok, biguanidok használata, alacsony zsírtartalmú étrend, a testmozgás mind a prevenciót szolgálja.

A ventromediális hipotalamuszban van a jóllakottsági központ, melynek bármilyen károsodása hipotalamikus obezitást idéz elő. Ezekre az emberekre hiperfágia, illetve csökkent termogenezis, hiperinzulinémia és obezitas jellemző. A ventromediális hipotalamuszban lévő glükózmonitorozó receptor aktivitásának növekedése a termogenezist stimulálja a szimpatikus idegrendszer által. A glükózmonitorozó receptor a paraszimpatikus idegrendszeren keresztül az inzulin szekrécióját csökkenti. A ventromediális hipotalamusz glükózreceptor működése nem a szérum glükóz, hanem a szérum inzulin szintjétől függ. A perifériás szövetek hatékony glükózhozzáférhetősége is inzulinfüggő. Az inzulinérzékeny ventromediális hipotalamusz glükózreceptora a jóllakottság-éhség kontroll hatékony működésére hat, stimulálja a termogenezist, és az inzulinszekréciót csökkenti (McCarty, 1993, 1997, Okada és mtsai, 1989, Rowland és mtsai, 1977, Schuit és mtsai, 2001, Stern és mtsai, 1976, Teitelbaum és mtsai, 1962).

## 2.6. A KRÓM PIKOLINÁT BEVITEL HATÁSA A TESTFELÉPÍTÉSRE

Az irodalomban a különböző krómpótlási lehetőségek közül a legtöbb humán vizsgálati adat a króm(III)-pikolinát komplex hatásának vizsgálatára vonatkozik. A vizsgálatsorozatok közül egy igen alapos, randomizált, placebo kontrollált vizsgálat során 200-400 μg króm pikolinátot illetve placebót kaptak a betegek naponta. Napi két részre elosztva, fehérje/szénhidrát tartalmú italba keverve fogyasztották el a két különböző mennyiségben adott króm-pikolinátot. Nem volt előírva testsúlycsökkentő diéta és kötelező testmozgás. A test összetételt kezdetben, és 72 nap elteltével vizsgálták meg, BCI indexet (body composition improvement) alkalmazva. A zsírmentes testtömeg (FFM, fat free mass) növekedésével lehet kiszámolni a BCI-t, ahogy a test zsírtartalma csökken, úgy nő az FFM. A test zsírtartalmának csökkenését és a FFM növekedést mint pozitív értékeket kezelték, míg a zsír növekedés és az FFM csökkenés negatív szám volt. Például, egy személy, aki két font zsírt veszített és nyert 1 FFM-et, ez a BCI értéke +3 lenne, míg egy egyén, aki 2 font zsírt vesztett, de ugyanakkor 2 font FFM-et is veszített 0 BCI-t kapna. Tehát ez a számítási mód sokkal alkalmasabb a testösszetétel változásának számszerűsítésére, és sokkal érzékenyebb, mint ha a testzsírt százalékban, vagy ha a testsúlycsökkenést kg-ban vagy BMI-ben adnánk meg.

A test zsírtartalmának, és a zsírt nem tartalmazó szövetek mennyiségének összevetése volt a vizsgálat tárgya. A kezelés megkezdése előtt nem volt szignifikáns különbség a három vizsgált csoport között. Azonban a vizsgálat végzése alatt mind a 200 μg/nap, mind a 400 μg/nap króm pikolinátot szedő csoportban szignifikánsan magasabb volt a BCI változása, mint a placebo csoportban. Nem volt viszont szignifikáns különbség a két különböző dózisban alkalmazott króm-pikolinátot szedő csoport között. Ez a megfigyelés azt látszik alátámasztani, hogy a korábban megállapított, és optimálisnak tartott 270 μg/nap krómbevitelnél kisebb mennyiség is elegendő lehet.

Ismert, hogy az inzulin direkt hat az aminosavak beáramlására az izomszövetekbe, és feltehetőleg minden olyan anatómiai helyen hat, ahol fehérjeszintézis történik, nem meglepő, hogy a glükóz háztartáson túl, az egésztest összetételre is mérhető hatást gyakorol (Grant és mtsai, 1997, Han és mtsai, 1965, Mayer és mtsai, 1956, McCarty 1994, Schulz és mtsai, 1993).

## 2.7. BIOLÓGIAILAG AKTÍV KRÓM OLIGOPEPTID (LMWCr)

A krómot, mint esszenciális nyomelemet régóta ismerték, tudták, hogy szükséges a normál szénhidrát és lipid metabolizmushoz. Ennek ellenére, a természetben előforduló, biológiailag aktív krómtartalmú molekulát, amelyet alacsony molekulasúlyú krómkötő anyagnak nevezünk (LMWCr), csak jóval később, a közelmúltban identifikálták, majd izolálták.

Fontossága ellenére szinte alig tudunk valamit a szerkezetéről, az összetételéről és in vivo biológiailag aktív formájáról. Tudjuk, hogy szerepe van a kialakult inzulin válasz nagyságának alakításában, miután az inzulin az inzulin receptor külső oldalához kötődött és azt aktiválta. A membrán foszfotirozin-protein-foszfatáz aktivitás válasza függ az LMWCr oligopeptid krómtartalmától. A maximális válasz eléréséhez oligopeptidenként legalább négy krómion jelenléte szükséges. Az izolált oligopeptidben a króm/oligopeptid arány 3,5/1. A krómtartalmú oligopeptid azonban a felhasználódás közben idővel arányos módon krómot veszít. Feltételezhető, hogy az alacsony molekulasúlyú oligopeptid egység eredetileg négy krómiont tartalmaz.

A szarvasmarhából izolált LMWCr képes aktiválni a patkány adipociták membránjának foszfotirozin-foszfatázát. Ez a kísérleti tény a tirozin-kináz-inzulin receptor kölcsönhatás (aktivitás) jobb megismeréséhez, új hatásmechanizmus feltételezéséhez vezetett.

Az alacsony molekulasúlyú krómtartalmú oligopeptid nem befolyásolja a tirosin-protein-kináz aktivitást a patkány zsírszövet membránrészeknél inzulin hiányában, de az inzulin által stimulált kináz aktivitás a membrán részekben nyolcszorosára növekszik az oligopeptidek jelenlétében. Elgondolkoztató, hogy a LMWCr krómtartalmától függő mértékben képes stimulálni az inzulin receptor tirosin-kináz aktivitását. A LMWCr felfedezése, hatásának megismerése képes megvilágítani a korábban nem értett kapcsolatot a króm, a 2. típusú diabetes mellitus és a kardiovaszkuláris betegségek között.

A LMWCr egy olyan oligopeptid, amely kb. 1500 Dalton molekulatömeggel, 4 kötött króm ionnal jellemezhető. Az aminosavak több mint a fele glutamát és aszpartát, amelyek, úgy tűnik, fontosak a krómkötő helyek kialakulása szempontjából. A LMWCr elsődleges szerepet játszik az inzulinhatás potencírozásában, az inzulinnak a receptorhoz való kötésében, de másodlagost a glükózmetabolizmusban.

Amíg egyes szerzők szerint a LMWCr aktiválja a membrán foszfotirozin foszfatázt, addig más tanulmányok szerint a LMWCr elsődleges funkciója az, hogy az inzulinreceptor tirosin kináz aktivitását fokozza. Ezek a tanulmányok a króm és a LMWCr biológiai

funkcióját ismertették. Egyes szerzők analógiát vélnek felfedezni a LMWCr és a kalmodulin hatásmechanizmusa között, mivel a LMWCr-hoz hasonlóan a kalmodulin 4 Ca iont köt meg válaszként a Ca beáramlásra, majd ez utóbbi forma kötődik a kinázokhoz és a foszfatázokhoz, stimulálva aktivitásukat. Véleményem szerint, önmagában ez az analógia meglehetősen formális.

A közelmúltban végzett vizsgálat feltárta, hogy ha a glükóz koncentrációja átmenetileg nő a vérben, időlegesen a krómkoncentráció is emelkedik, majd a keringésben megjelenő többlet inzulin hatására az inzulin dependens sejtek krómfelvétele következtében a króm koncentrációja csökken. A LMWCr ezekben a sejtekben krómmentes LMW formában marad, úgy, hogy megőrzi Cr-kötő képességét. Ez a tulajdonsága teszi érthetővé, hogy képes a krómot mobilizálni a króm transzferből. A LMWCr-nek az inzulinhatást potencírozó képessége (foszfotirozin-kináz aktiválás) közvetlenül függ krómtartalmától, és a króm nem helyettesíthető más, átmeneti fémionnal, viszont az inzulin valószínűleg stimulálja a LMWCr aktivitásának helyreállítását, azaz krómmal való feltöltését. Így nem meglepő, hogy a króm hiánya összefüggésbe hozható a nem inzulin dependens diabetes mellitus kialakulásával. Ismert az is, hogy krómadás Streptozotocin indukálta diabeteses patkányoknál megnövekedett inzulinérzékenységet eredményez, bár az inzulinreceptorok száma konstans marad.

A króm úgy ismert, mint szükséges nyomelem a megfelelő szénhidrát és lipid metabolizmushoz emlősökben. Sajnos, az egyéb, biológiailag aktív krómvegyületek struktúrája, funkciója és hatásmódja még nem ismert (Vincent 1999, 2000).

## 2.8. A KRÓM TÁPLÁLÉKKAL TÖRTÉNŐ BEVITELE, A BEVITT KRÓMMENNYISÉG BECSLÉSÉNEK LEHETŐSÉGE

A három vegyértékű króm glükóztoleranciában játszott szerepének 1959-es felfedezése óta számos tanulmány dokumentálta a táplálékkal bevitt króm glükóz és lipidanyagcserében betöltött szerepét. (Mertz, 1998) Ezen metabolizmusokban valószínűleg az inzulinhatás potencírozásán keresztül hat. A króm pontos hatásmechanizmusa nem ismert, ezért fontos fiziológiai szerepének, és a biológiailag aktív formájának további kutatása.

Az ajánlott biztonságos és adekvát napi króm bevitel felnőtteknek 50-200 μg. A megbízható tanulmányokból kitűnik, hogy a betegek csak 40-60 %-át fogyasztják a minimálisan ajánlott mennyiségnek. Az egyik tanulmányban az átlagos napi bevitel (7 nap átlaga) 22 nőt vizsgálva 25 ± 1 μg, 10 férfinél pedig 33 ± 3 μg volt (Anderson és Kozlovszky, 1985). Hasonló eredmények láttak napvilágot Angliában, Finnországban és Új-Zélandon

(Anderson, 1987). A napi, táplálékkal bevitt króm 18 anyánál, két hónappal a szülést követően 41 ± 4 μg volt, míg ugyanez a paraméter a kontrollként vizsgált nőknél 27 ± 2μg-nak bizonyult (Anderson és mtsai, 1988). Szülés után a nők nagyobb krómbevitele hátterében a nagyobb mennyiségű étel fogyasztása szerepel. A króm relatív biohasznosulása fordított arányban áll a bevitt króm mennyiségével. Továbbá az is érdekes, hogy a felszívódás a terhes nőkben jelentősen nagyobb volt, mint a kontroll csoportban. A felszívódás fokozódása azon esetekben volt kifejezett, amikor a táplálékkal bevitt króm napi mennyisége kevesebb volt, mint 30 μg.

Nincsenek megbízható alapadatok és számítási módszerek a diétás krómbevitel kiszámítására, ezért csak a direkt mérések szolgáltatnak megbízható adatokat. Ezt támasztották alá Anderson és mtsai mérési eredményei is. Meghatározták különböző fajta sörök, valamint azonos fajta sörök különböző gyártási sorozatainak krómtartalmát. Mind az egyes fajták, mind az egyes fajták különböző gyártási sorozatai nagy variabilitást mutattak a krómtartalom tekintetében (Anderson és Bryden, 1983). Hasonló eredményeket kaptak különböző fajtájú és gyártási sorozatú kukoricapehely készítmények esetében is (Anderson, 1988). Az észlelt variabilitás illuzórikussá teszi olyan általános, krómtartalmat megadó táblázat kidolgozását, amely segítségével kellő pontossággal számítani lehetne a táplálékkal bevitt króm mennyiségét. A szezonális és a geográfiai variabilitás tovább növeli a bizonytalanságot.

## 2.9. A KRÓM ÉS A GLÜKÓZTOLERANCIA

Jelen tudásunk szerint a króm optimális szint alatti bevitele glükóz és lipidmetabolizmus károsodásával jár együtt. A króm deficiencia az alábbiakban leírt jellemző rendellenességek mellett, azaz:

- elhúzódó hiperglikémia,
- csökkent glükóztolerancia,
- emelkedett inzulin szint,
- glükózuria,
- emelkedett szérum koleszterin és triglicerid szintek,
- csökkent inzulinkötődés,
- csökkent számú működő inzulinreceptor,

továbbá még olyan tüneteket is produkálhat, mint:

- váratlan súlyvesztés, károsodott idegvezetés

- és egyéb neurológiai eltérések.
- Az irodalomban leírtak, és saját tapasztalataink szerint is megfelelő krómvegyület adagolásával a fentiekben összefoglalt eltérések szerencsés esetekben eliminálhatók, illetve szinte majd minden esetben mérsékelhetők. A króm szupplementáció hatékonyságát legmarkánsabban jelzi a javult glükóztolerancia, amely nem korlátozódik a csak totális parenterális táplálásban részesülő betegekre.

Irodalmi adatok szerint protein kalória malnutricióban szenvedő gyermekek (Hopkins, 1968, Gurson 1971), emelkedett koleszterinszintet mutató felnőttek (Wang, 1989) idősek (Levinne, 1968), inzulin és nem-inzulin dependens diabetesben szenvedők (Glinsmann, és Mertz, 1966, Nath, 1979, Mossop, 1983), valamint hipoglikémiások (Anderson, 1987) esetében hatékonynak bizonyult a hosszabb - rövidebb ideig alkalmazott króm szupplementációs kezelés.

A króm nemcsak az emelkedett vércukor szinteket képes többé-kevésbé normalizálni, hanem a csökkent vércukorszintekre is jótékonyan hat (Anderson, 1987). Clausen (1988) 20 hipoglikémiás betegnél szintén javuló tendenciát észlelt három hónapos krómpótlást (125µg Cr/nap) követően. Ebben a tanulmányban az észlelt biológiai hatás még kifejezettebb volt egy hónappal a kezelés befejezése után. A krómnak mind alacsony, mind pedig magas vércukorszintekre gyakorolt jótékony hatása valószínűleg az inzulinhatás normalizálásán alapul. A hatásmechanizmust az a megfigyelés is alátámasztja, hogy cukorbevitelt vagy étkezést követően a korábbiakban észlelteknél alacsonyabb inzulin koncentrációk alakulnak ki. Következésképpen a kevesebb inzulin jelenléte a hipoglikémia kialakulásának valószínűségét is csökkenti (Anderson, 1987). A glükóz és lipid metabolizmusnak a króm szupplementációt követő javulása arányos a glükóz intolerencia fokával, a szokványos étkezési krómbevitellel és a krómpótlás mértékével. Tetten érhető, hogy azok a kutatók, akik nem találtak hasznos hatásokat a krómbevitellel kapcsolatban, gyakran nem jól tervezték meg vizsgálataikat, vagy a vizsgálattervezettől jelentősen eltértek (Shermann 1968, Wise, 1978, Rabinovitz, 1983, Offenbacher, 1985) Például Shermann és munkatársai (1968) 4 nem diabeteses személyt vizsgáltak, akiknek a második órában mért glükóz értékei azonosak voltak az éhgyomri értékekkel. Ezeknek a személyeknek közel normális glükóztoleranciájuk volt, ezért az amúgy is normál laboratóriumi értékeik nem változtak a króm szupplementációt követően. A nevezett tanulmányban a további vizsgálati alanyok diabetesesek voltak, akik csak 100 µg krómot kaptak naponta. Ez a dózis valószínűleg nem volt elég a diabeteses állapot javítására. Ezzel szemben, Mossop (1983) diabeteses betegeit 500 µg/nap krómmal

kezelte, és drámai javulást tapasztalt a glükóz-toleranciában. Wise (1978), az általa végzett vizsgálatban nem alkalmazott kettős vak módszert, és a vizsgálat csak 6 napig tartott. Rabinowitz (1983) tanulmánya a krómbevitel hasznosságát nem igazolta, de olyan diabetesesek adatait elemezte, akiknél a kezelés során bevitt króm mennyisége nem volt megállapítható. Gyanítható a 7 μg/nap vizelettel ürített króm mennyiség alapján, hogy ezek a betegek jóval több krómot fogyaszthattak, mint bármelyik más kutató által vizsgált beteg, akik a krómkezelésre jól reagáltak Anderson (1983, 1987) és Martinez (1985). Offenbacher és Pi-Sunyer (1980) a krómban gazdag élesztő hasznáról számoltak be olyan idős embereknél, akiknél nem volt ismert a krómbevitel mértéke. Nem meglepő, hogy utánkövetéses tanulmányukban nem voltak képesek a krómkezelés hasznát demonstrálni (Offenbacher, 1985). A tanulmányból továbbá az is kitűnt, hogy a vizsgált egyedek fegyelmezetten tartották a diétájukat. Ez utóbbinak volt köszönhető, hogy a táplálékkal bevitt krómot a szokásosnál pontosabban sikerült megbecsülni, értéke 37,1 μg Cr/nap-nak adódott. Így már érthető, hogy a szupplementáció nem vezethetett és nem is vezetett további javuláshoz a glükóz és lipid metabolizmusban.

## 2.10. A CUKROK INZULINOGÉN TULAJDONSÁGAI ÉS A VIZELETTEL VESZÍTETT KRÓM

Kozlovsky és munkatársai (1986) kimutatták, hogy az egyszerű cukrokban gazdag diéta növeli a vizelettel ürített króm mennyiségét, mivel az egyszerű cukrok fokozzák a keringő inzulin mennyiségét. Anderson és munkatársai (1990) utánkövetéses vizsgálatot végeztek annak meghatározására, vajon az olyan szénhidrátok vagy kombinációjuk, amelyek a keringő inzulin és/vagy glükóz nagyobb mértékű növekedését idézik elő, előidézik-e a vizelettel való, arányosan nagyobb krómvesztést is? Húsz vizsgált egyénnek (11 férfi és 9 nő) a következő négy szénhidrát tartalmú ital kombinációja közül testsúlykilogrammra számított dózisban egyet-egyet adtak 5 napon keresztül. Két különböző kombináció adagolása között legalább két hét telt el. A fentiekben említett kombinációk a következő összetételűek voltak:

1. 1,0 g glükóz,
2. 0,9 g főzetlen keményítő,
3. 1 g glükóz, melyet 20 perc múlva 1,75 g fruktóz követett,
4. Víz, amit 20 perc múlva 1,75 g fruktóz követett.

Vizsgálataik szerint a glükóz és fruktóz kombináció volt leginkább inzulinogén, ezt követte a glükóz egyedül adva, majd a keményítő és fruktóz, ezután a keményítő egyedül,

majd a víz és a fruktóz kombinációja. Azon vizsgálati alanyok, akik a glükóz és a fruktóz elfogyasztása után 718 pmol/l (100 μU/ml), vagy ennél nagyobb inzulinválaszt adtak, nem mutattak emelkedett krómvesztést a keringő inzulin szintjének növekedésével. Úgy tűnik, az emelkedett inzulin válasszal rendelkező alanyok elveszítik azon képességüket, hogy elégséges mennyiségű krómot mobilizáljanak a pluszban bevitt szénhidrát okozta „stressz" ellensúlyozására. A króm mobilizációjának elmaradása úgy is felfogható, hogy az elégtelen krómbevitel következtében a krómraktárak meglehetősen üresek (Anderson és Kozlovsky, 1985). Ez összhangban van azzal a megfigyeléssel, miszerint azok, akik a króm kiegészítésre jól reagálnak, általában határértéken lévő, vagy károsodott glükóz-toleranciával bírnak, míg azok akiknek a glükóz-toleranciájuk közel optimális, nem reagálnak a króm bevitelre (Anderson, 1983, 1987, Martinez, 1985). Earle és munkatársai (1989) megerősítették, hogy a különböző vizsgálati csoportok eltérően reagálnak a króm bevitelére, hiszen ismert, hogy a nem elhízott egyedeknek szignifikánsan alacsonyabb plazma króm és inzulinértékeik vannak, mint a vizsgálatba bevont elhízott kontroll alanyoknak. Ugyanakkor nem tudtak szignifikáns különbséget találni a súlytöbblettel rendelkező és nem rendelkező diabeteses vizsgálati alanyok között. Úgy tűnik, a króm metabolizmus és a testtömeg index (BMI) változása között nincs összefüggés.

## 2.11. A KRÓM ÉS AZ INZULIN INTERAKCIÓJA

A króm és az inzulin kölcsönhatás mechanizmusa pontosan nem ismert. Mertz (1974) feltételezte, hogy a króm kötést formál a sejtmembrán és az inzulin hidrofil csoportja között. A króm azonban közvetlenül is kötődhet az inzulinhoz, amit konformáció változás követhet, módosítva a receptorkötődés erősségét, és (vagy) modifikálva az aktivitást, anélkül, hogy a króm direkt módon hidat képezne a receptor és az inzulin molekula között. Az előbbieket valószínűsíti, hogy egy inzulint potenciáló hatású króm-nikotinsav-glutation komplex szorosan kapcsolódik az inzulin molekulához (Anderson, 1978). A kötés erősségére jellemző, hogy a komplex csak részlegesen disszociált az inzulinról triklórecetsavas, perklórsavas vagy ammóniumszulfátos precipitáció után. Melegítéssel 1,8-as pH-nál a króm komplex 85%-át le lehetett választani az inzulinról. Egy részlegesen tisztított, természetesen előforduló, inzulin hatását potencírozó faktorról szintén kimutatták, hogy inzulinhoz kötődik, és a kötődés vezet megnövekedett inzulin aktivitáshoz (Evans, 1973). Az inzulin alfa és epszilon aminocsoportjainak acetilációja megakadályozta ezen faktor inzulinhoz kötődését. Egy élesztőből izolált $^{51}$Cr-jelzett anionos komplex szintén kötődött inzulinhoz (Votava, 1973), bár ezen komplexeknek inzulin aktivitást fokozó hatása nem lett kvantitative megmérve. Egy

speciális Cr (III) komplex inzulinhoz kötődését követően, jelentősen megváltoztatta az inzulin kimotripszin-katalizálta degradációját. (Govindaraju, 1989). Ez az inzulinhoz kötődő króm-komplex nagyobb mértékben csökkentette a vércukor-, szérum koleszterin és foszfolipid szinteket kémiailag diabetesessé tett patkányokban, mint az inzulin egyedül (Govindaraju, 1989). Ez a tény bizonyítja, hogy az inzulin-molekula konformációs változásai szorosan összefüggnek a tapasztalt biológiai válaszokkal. A krómnak a β-sejtek glükózszenzitivitására gyakorolt hatása szintén magyarázhatja a króm szupplementáció előidézte fokozott aktivitást (Potter, 1985). Szoptatós patkányok egész pankreásznak inzulintartalma csökkent króm bevitel után, de növekedett az elválasztást követően. A krómmal kezelt felnőtt patkányok β sejt tömege valamint az egész pankreásznak krómtartalma megnövekedett a kezelés hatására (Hubner, 1989). Ghafghazie és munkatársai (1980) megfigyelései szerint felnőtt patkányokból izolált szigetsejteken észlelt inzulin szekréciós gátlás króm jelenlétében, a króm és az intracelluláris kalcium közötti interakció következménye, tekintettel arra, hogy a gátlás kalciummal kivédhető volt.

## 2.12. A KRÓM BIOLÓGIAILAG AKTÍV FORMÁI

A króm biológiailag aktív formája feltételezés szerint krómot, nikotinsavat és aminosavakat tartalmaz (Mertz, 1974). Logikusnak tűnik, hogy elégtelen nikotinsav és/vagy aminosav ellátottság a króm hatásának csökkenéséhez, vagy teljes elmaradásához vezethet, annak ellenére, hogy a rendszer elegendő krómot tartalmaz. Urberg és Zemmel (1987) feltételezték, hogy a krómra adott, alkalmanként megfigyelhető inkonzisztens reakció oka az, hogy a krómhoz kötődő és ezáltal biológiailag aktív nikotinsav-krómkomplex kialakulása vagy a kialakult komplex működése valamilyen okból kifolyólag gátolt (nikotinsav hiány, nikotinsavnál erősebb komplexképzők jelenléte, stb.).

Yang és munkatársai (1988) Cr(III)-nikotinsav-aminosav komplexet szintetizáltak, ami hatásosan csökkentette a vércukorszintet és a lipidszintet is. Nyulakban a komplex hozzávetőleg 73 %-kal csökkentette a szérum triglicerid, és mintegy 44 %-kal a koleszterin szintet. Ezen komplex készítmény adagolását követően a hiperlipoproteinémiában szenvedő betegek 70 %-a mutatott javulást. A vércukorszint 12 diabeteses beteg közül 8-ban csökkent a kezelés hatására.

Egy másik vizsgálat eredményei azt mutatják, hogy a króm-pikolinsav komplex szintén csökkentette a szérum lipid szinteket, és javította a glükóztoleranciát (Evans és Press, 1989). 28 önkéntesen végzett vizsgálat tanúsága szerint a 42 napon keresztül alkalmazott króm-

pikolinát kezelés (200 μg króm) az összkoleszterin, LDL-koleszterin és az apolipoprotein B szintek csökkenését eredményezte.

Egy másik tanulmányban króm-pikolinsav terápia mind a vércukorszintet, mind a glikált hemoglobin szintet csökkentette (esetszám:11). A króm-pikolinsav komplex a testfelépítést is képes kedvező irányba befolyásolni kórosan sovány egyének esetében (10 eset).

Szemben a szervetlen króm(III) és a króm(VI) ionokkal, a szárított élesztőből izolált glükóz tolerancia faktor (GTF) kb.5-6-szorosára növeli a zsírsejtek glükózfelvételét. A növekedés okaként a GTF által megnövelt glükóztranszport jelölhető meg (csökkent $K_d$, alig változó $V_{max}$). Úgy gondolom, a szervetlen krómionok biológiai hatásának elmaradása valószínűleg a krómionok rendkívül stabilis hexakvo burkának kialakulásával magyarázható.

Khan és munkatársai (1990) különböző élelmiszerekből és fűszerekből izoláltak alacsony molekulatömegű, inzulin potenciáló faktorokat. Fahéj, szegfűszeg, babérlevél és kurkuma kivonatok több mint háromszorosára növelték az inzulin aktivitását. A leghatékonyabbnak talált élelmiszerek és fűszerek króm koncentrációja nem korrelált a bioaktivitással. Feltételezem, hogy a korreláció hiányát az a méréstechnikai nehézség okozta, hogy a kutatók az élelmiszerek össz krómkoncentrációja mellett képtelenek voltak megmérni a szervesen kötött krómfrakciót, hiszen az előbbiek is mutatták, hogy az anorganikus króm kevésbé hatékony, vagy éppen hatástalan.

A biológiailag aktív krómkomplexek kutatásának lendületet adott a marha kolosztrumból izolált anyag (Yamamoto, 1988). A tisztított, biológiailag aktív komplex egy anionos krómtartalmú anyag, molekulatömege hozzávetőleg 1500 Dalton, és a króm mellett aszpartátsavat, glutaminsavat, glicint és ciszteint 5:4:2:1 arányban tartalmaz. Nikotinsavat nem találtak benne, de valamilyen, az ultraibolya tartományban a nikotinsavhoz hasonló hullámhosszon abszorbeáló anyag (260 nm) jelen volt a komplexben.

A biológiailag aktív krómvegyületek hatásának megítélése nehéz feladat. Az irodalom áttekintése alapján ezt jól példázza, hogy egyes kutatók téves konklúziót vontak le a GTF-ban lévő króm inzulinhatást potencírozó tulajdonságára vonatkozóan. Feltételezték, hogy a króm nem képezi részét a GTF-nak, mivel a króm koncentrációja alacsony, vagy nem detektálható a legnagyobb biológiai aktivitást mutató anyagban. Talán a vizsgálataik tájékozódó jellegűek voltak, esetleg nem megfelelő módszert vagy felszerelést alkalmaztak. A tanulság, hogy elhamarkodott következtetéseket nem szabad levonni tájékoztató jellegű adatok birtokában. Ezek a következtetések nem gyarapítják a króm biológiailag aktív formáiról szerzett eddigi tudásunkat, csak zavart keltenek ezen a területen, és nem szolgálják az előrehaladást.

## 2.13. A KRÓM ÉS A NUKLEINSAVAK

Okada és munkatársai (1989) szerint a króm hasznos szerepet játszik az emlősök gén expressziójában, de ugyanakkor mutagén is lehet. A króm hatására bekövetkező fokozott génexpresszió, valamint a mutagenezis mechanizmusa ismeretlen. A króm előszeretettel kötődik a DNS-hez a kromatinban, ezáltal az iniciációs helyek számának növekedését, és ezen keresztül fokozott RNS szintézist okoz. A szintézis fokozódása egy 70.000 Daltonos nukleáris króm-kötő fehérje indukcióján, és a nukleáris kromatin aktivációján keresztül valósul meg (Okada, 1989). Emellett a króm már kis mennyiségben is (0,5-5 μg) aktiválhatja a DNS-polimerázt, ami mutagenezishez vezethet.

## 2.14. TÁPLÁLKOZÁSI TÉNYEZŐK SZEREPE A GLÜKÓZ-INZULIN RENDSZERBEN

### 2.14.1. A TÁPLÁLÉKKAL A SZERVEZETBE KERÜLŐ KRÓM SZEREPE

A megfelelő formában bevitt króm javítja a glükóz/inzulin rendszer működését hipoglikémiás, hiperglikémiás, diabeteses és hiperlipidémiás egyénekben, miközben az egészséges egyénekre nincs érzékelhető hatása. Az általános inzulin érzékenység növelésével javítja az inzulin kötődését, és az asszociációs konstans növelésével az inzulin internalizálódását. Növeli a béta sejt érzékenységet, fokozza az inzulin receptor enzimek aktivitását.

Számos vizsgálatot végeztek 2-es típusú és/vagy dislipidémiás egyéneken króm tartalmú táplálék kiegészítők hatásával kapcsolatban. A legtöbb szerző a krómnak a glükóz-inzulin rendszerre kifejtett jótékony hatásáról számolt be. Egy, a közelmúltban készült tanulmány következtetései is megerősítik a fentieket. Adataik szerint a négy hónapos, 500 μg(Cr)/napos placebo-kontrollált, króm-pikolinát formájában alkalmazott terápia meggyőző (szignifikáns) eredményre vezetett a 2-es típusú diabeteses betegek kezelésénél. Következtetésképpen bizonyítottnak tekinthető, hogy a króm szerepet játszik a glükóz-inzulin rendszer kontrolljában, és a króm mennyisége és kémiai formája is meghatározó (Bahiriji, 2000).

### 2.14.2. DIÉTÁVAL KOMBINÁLT, KRÓMÉLESZTŐ ÉS A KRÓM-PIKOLINÁT KEZELÉS HATÁSA A TESTÖSSZETÉTELRE TÚLSÚLYOS, NEM DIABETESES BETEGEKNÉL

Az erre vonatkozó tanulmányoknak a célja az volt, hogy a krómélesztő és a króm-pikolinát zsírmentes testtömegre kifejtett hatását alacsony kalóritartalmú diéta hatására bekövetkezett súlycsökkenés alatt és után mérje.

Az egyik, placebo kontrollált vizsgálatról szóló tanulmány 36 elhízott, három csoportra osztott, nem diabeteses, 8 héten keresztül alacsony kalóriatartalmú diétával kiegészített, és 18 héten keresztül 200 μg(Cr)/nap krómterápiában (részben krómélesztő, részben króm-pikolinát) részesített beteg 26 hetes kezelése során kapott eredményeket dolgozott fel. Az értékelés során megállapították, hogy a testtömeg csökkenése mindhárom csoportban jelentős volt már a 8. hét után is. A 8. hét után a zsírmentes testtömeg mindhárom csoportban csökkent. A tanulmány meglepő eredménye, hogy a króm-pikolinátot kapó csoportban a 26. hét után a testtömeg csökkenésen belül a zsírmentes testtömeg növekedett ($p<0.029$), míg a többi csoportban továbbra sem változott az arány. Ez azt jelenti, hogy a króm-pikolinát, szemben a krómélesztővel, úgy volt képes fokozni a zsírmentes testtömeget elhízott betegben, alacsony kalóriatartalmú fogyókúra után a fenntartási periódusban, hogy közben nem veszélyeztette az elért tömegcsökkenést (Kaatrs, 1996).

## 2.15. AZ INZULINRECEPTOR BIOLÓGIÁJA

Az inzulinrezisztencia talaján kialakult 2-es típusú diabetes mellitus patogenezisének megismeréséhez az inzulin hatásmechanizmusának magyarázata az egyik legfontosabb lépés. Az inzulinhatás első lépése a hormon és egy specifikus plazma membrán receptor kölcsönhatása. Az inzulinreceptor a plazma membrán glikoprotein szerves alkotórésze. Négy alegységből épül fel: két exoplazmatikusan elhelyezkedő α alegységből, amely diszulfid hidakon keresztül kötődik a transzmembrálisan elhelyezkedő β alegységekhez. Az α alegységhez kötődött inzulin a tirosin-protein-kinázt aktiválja, amely a citoplazmán belül elhelyezkedő β alegységen autotranszformációt indukál a maradék tirosinon. A hormon és a sejtfelületi receptor interakcióját követően egyéb folyamatok is lejátszódnak. A fentiek hatására megjelenő biológiai szignál indukálja a hormon degradációját, majd következésképpen szabályozódik az aktív felületi receptorszám és érzékenység. Az átalakulás következményeként kialakult inzulin-receptor komplex belép a célsejtbe internalizáció, vagy receptor mediálta endocitózis útján.

Jelen tudásunk szerint a 2-es típusú diabetes mellitusban észlelt inzulinrezisztenciát végső soron a receptor kapacitás és a tirozin kináz aktivitás csökkenése okozza (Cefalu, 1998, Davis és mtsai, 1996, 1997, Kelly, 2000, Mertz, 1993).

# 3. CÉLKITŰZÉSEK

Célom, munkám során, az irodalomból ismert króm (III) vegyületek glükóz metabolizmusban betöltött szerepének vizsgálata volt.

A következő kérdésekre kerestük a választ:

1. A három vegyértékű króm megváltoztatja-e a sejtek glükóz felhasználását és/vagy a sejtmembránok permeabilitását? Valamint van-e hatása az inzulinmolekula stabilitására. A kérdés eldöntésére in vitro módszert dolgoztunk ki.

2. A PTE, ÁOK, Élettani Intézetében Dr. Karádi Zoltán munkacsoportjával folytatott kollaborációs állatkísérletekben azt tanulmányoztuk, hogy a ventromediális hipotalamuszt vagy glükózmonitorozó idegsejtjeinek elpusztítása nyomán létrejövő, kórosan csökkent glükóztolerancia kialakulását befolyásolja, megakadályozza-e króm(III)-ionokkal végzett előkezelés. Célunk az volt, hogy igazoljuk (vagy kizárjuk) a króm(III)-ionok központi idegrendszer támadáspontját.

3. A 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek egy csoportjának orális krómkezelés jár-e kimutatható előnnyel az egyéb antidiabetikus terápiával kombinálva? Ismert, hogy napjainkban a króm bevitel nem optimális, ezért feltételezhető, hogy csökkent glükóz toleranciában, hiperlipidémiában, továbbá totális parenterális táplálást követően kialakult diabetesben. A leggyakoribb azonban, hogy néhány 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegnél a króm hiánya szerepet játszhat a betegség kialakulásában. Saját kezdeményezésű humán vizsgálatot végeztünk a kérdés eldöntésére.

# 4. KÍSÉRLETI ÉS VIZSGÁLATI RÉSZ

## 4.1. IN VITRO VIZSGÁLATOK (PILOT STUDY)

Vizsgálatunk célja a krómnak, inzulin jelen-, ill. távollétében a vörösvértestek glükóz anyagcseréjében kifejtett szerepének tisztázása volt in vitro körülmények között. Egyben vizsgáltuk a szelénnek és a magnéziumnak, mint fontos ionoknak az esetleges hatását is ezen folyamatban. Új, könnyen alkalmazható, in vitro módszert fejlesztettünk ki a fentiekben vázolt kérdéskör vörösvértestek glükóz fogyasztására kifejtett hatásának vizsgálatára. A vörösvértest-szuszpenziók glükóz felhasználását külön-külön a króm(III), szelén, inzulin, magnézium ionok jelenlétében, illetve egyszerre több, az előbb említett vizsgált ágens együttes jelenlétében, az alább ismertetett módszerrel és körülmények között mértük.

### 4.1.1. A MODELLVEGYÜLET ÉS RENDSZER KIVÁLASZTÁSA

#### 4.1.1.1. A modellvegyület kiválasztása

Ismeretes, hogy a hatásért maguk a $Cr^{3+}$-ionok tehetők felelőssé, az anionok szerepe bizonyos korlátok között (pl.: ne legyenek sejtmérgek) elhanyagolható. A koordinációs szféra kémiai összetételének többnyire csak farmakokinetikai (kompartmentek és membránok átjárhatósága) szempontokból van jelentős szerepe. A $Cr^{3+}$ -vegyületek kutatási eredményeiből ismert, hogy a háromértékű komplex ionok mind két, mind három kétfogú ligandumot tartalmazó ligandumtér esetén megfelelő stabilitást és határozott kémiai összetételt mutatnak.

Vizsgálataink előtt huszonöt, részben két, részben három ligandumot tartalmazó, jól definiált kémiai összetétellel rendelkező komplex $Cr^{3+}$ -vegyületet szintetizáltunk. Ligandumként nikotinsavat, aszkorbinsavat, pikolinsavat, L-tirozint, L-glutamint, L-aszparagint, L-ciszteint L-hisztidint, L-leucint, DL-α-alanint, glükóz-6-foszfátot, uracilt és glükózamint használtunk.

A preparátumok elsődleges vizsgálata és kiválasztása során a következő szempontokat helyeztük előtérbe:

- könnyű és reprodukálható előállíthatóság,
- jó vízoldhatóság,

- az alkalmazni kívánt koncentrációjú vizes oldat pH -ja,
- a ligandum vizes oldatbeli stabilitása,
- a ligandum saját farmakológiai hatásának elhanyagolhatósága a kiválasztott rendszerben, ill. a vizsgálni kívánt folyamatok szempontjából,
- a komplex ion ideális (nem kicsi, nem túl nagy) stabilitása,
- az élettani, biokémiai, farmakológiai hatások szükséges irodalmi ismertségi szintje.

Belátható például az, hogy a nikotinsav és a glutamin komplexek alacsony vízoldhatóságuk miatt, vagy az aszkorbinsav komplexek a komlexáló ágens vizes oldatbani bomlékonysága miatt eleve nem elégítik ki a tesztvegyület iránt támasztott követelményeket.

Az egyes vegyületek tulajdonságait nem részletezve, a fenti szempontoknak -különös tekintettel az ismertség, vízoldhatóság, komplex, ill. ligandum stabilitás szempontjaira- legjobban a kettes és hármas koordinációs számmal rendelkező pikolinát komplexek feleltek meg.

### 4.1.1.2. A rendszer kiválasztása

A kiválasztott rendszerrel szemben a következő fontosabb követelményeket támasztottuk. Olyan rendszerre volt szükség, amely:

- életfunkciójukat hosszabb ideig megtartó (túlélő) sejteket tartalmaz,
- sejtkoncentrációja elég magas ahhoz, hogy a biokémiai átalakulások analitikailag követhetők legyenek, lehetőleg egyszerű analitikai módszerek segítségével,
- a sejtkoncentráció ellenőrzése egyszerűen megvalósítható,
- az életfunkciók egyszerű módszerekkel, a vizsgálat időtartama alatt közelítőleg állandó aktivitás mellett legyenek fenntarthatók,
- egy vizsgálat során viszonylag sok mintaösszetétel legyen vizsgálható,
- a rendszer integritása egyszerű módszerekkel legyen ellenőrizhető,
- alkalmas a tesztvegyület permeációjának követésére,
- az életfunkciók fenntartása során számottevő glükózfelhasználást eredményez,
- olcsón előállítható, egyszerűen fenntartható.

A rendszer kiválasztása során kompromisszumot kellett kötni.

Tekintettel arra, hogy a cukoranyagcsere során az inzulinnak, és az inzulin működésével kapcsolatos folyamatoknak fontos szerepe van, ideális olyan túlélő sejt vagy szövetkultúra lett volna, amely lehetővé teszi az inzulinnak a glükóz anyagcsere folyamatra gyakorolt hatása, ill. a bekövetkező változások követését is. Ilyen sejtkultúra megfelelő mennyiségben való

előállítása, fenntartása egyrészt költséges, másrészt számunkra megoldhatatlan technikai feladatott jelentett. Ezért választásunk a vörösvértest szuszpenziós modellre esett, mivel:

- gyakorlatilag korlátlan mennyiségben áll rendelkezésre,
- nem költséges,
- az életfunkciók fenntartása egyszerű,
- a membrán permeábilitási folyamatok (Cr-ionok, inzulinhatás) jól követhetők,
- a rendszer stabilitása, integritása (hemoglobin és kálium kiáramlás) egyszerű módszerekkel ellenőrizhető,
- a glükóz felhasználása kellően intenzív, és egyszerűen, érzékenyen mérhető,
- az inzulinmolekula időbeni stabilitásának változása jól követhető.

Annak ellenére, hogy ezen sejttípusnak nincs inzulin receptora, a felvetett kérdés megválaszolására, azaz -a vizsgált fémionoknak van -e mérhető hatása az inzulinmolekula stabilitására-, a választott modell kétséget kizáróan alkalmasnak látszott.

### 4.1.2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

**Az alkalmazott oldatok összetétele:**

*$Cr^{3+}$-pikolinát oldat:*

- koncentrációja: 80 µM/l
- oldószere: fiziológiás sóoldat

A króm-pikolinát komplexet Evans és Poutschnik módszere szerint készítettük.

*$H_2SeO_3$ oldat:*

törzsoldat:

- koncentrációja: 100 µM/l
- oldószere: fiziológiás sóoldat

munkaoldat:

- koncentrációja: 16 µM/l
- bemérés: 1. 0 térfogatú törzsoldat
- oldószere (hígítószere): 5.25. térfogatú szérum

A $H_2SeO_3$ Reanal, pro anal. minőségű volt.

*$MgCl_2$ oldat:*

- koncentrációja: 8 mM/l
- oldószere: 141 mM/l -es sóoldat

Az alkalmazott magnézium-klorid Reanal, pro anal. minőségű volt.

*Inzulin (Actrapid) oldat (Novo Nordisk, Norvégia) :*

- koncentrációja: 1600 µIU/ml
- oldószere: fiziológiás sóoldat

*A glükóz (Reanal, pro anal.) tartalmú, közelítőleg izoozmotikus inkubációs médiumok előállításához szükséges alapoldat:*

glükóz

- koncentrációja: 10 mM/l
- oldószere: 4 mM/l $NaH_2PO_4$- $Na_2HPO_4$ -ot tartalmazó, 145 mM/l-es NaCl oldat
- pH-ja: 7.38

*Fiziológiás só és a szérum oldat:*

- szérumkoncentráció: 84 % (V/V)
- fiziológiás sóoldat koncentráció: 16 % (V/V)

**Vörösvértest-massza készítése:**

A vörösvértest masszát a következők szerint készítettük heparinizált vérből (amely poliglobuliás anamnézissel rendelkező, középkorú betegek terápiás vérlebocsátásából származott): A vörösvértest-masszát a plazmától centrifugálással szeparáltuk (1000 X g, 10 perc, 0 - +4 $^{o}$C), majd a szeparált plazma térfogatával azonos térfogatú fiziológiás sóoldattal háromszor mostuk. A mosófolyadékot elöntöttük. A mosott és centrifugálással szeparált vörösvértest massza (Htc=0.9 l/l) azonos mennyiségeit (4 ml) a táblázatban látható mintaösszetételek eseteiben vizsgáltuk.

**A minták elkészítése és összetétele:**

Az inkubációs médium alkotóit automata pipettával mértük a 10 ml térfogatú, szilikon gumi membrándugóval zárható tesztcsövekbe. A csövek tartalmát összekevertük. Végül a vörösvértest szuszpenzió kívánt mennyiségei (4.0-4.0 ml) széles kifolyónyílással rendelkező, osztott, 10 ml -es pipettával kerültek bemérésre. A csöveket a bemérést követően azonnal lezártuk, tartalmukat forgatással óvatosan homogenizáltuk. A vizsgálat időskálájának nulla pontját (t=0 min) a továbbiakban a vörösvértest szuszpenzió bemérésének időpontja képezte. A vizsgálatok során a fenti koncentrációjú oldatokat az alábbi táblázatban jelzett mennyiségekben alkalmazva, a tesztcsövekben a hematokrit érték 0.5 l/l, a minták ozmolaritása pedig hozzávetőlegesen fiziológiás volt.

1. Táblázat. A különböző oldatok alkalmazott mennyiségei ml -ben (minták összetétele) az egyes tesztcsövekben

| Minta | Vörös-vértestek | Inzulin | $Cr^{3+}$ | $Mg^{2+}$ | $Se^{4+}$ | Fiz. sóoldat | Fiziológiás óoldat és glükóz | Fiziológiás só oldat és szérum |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| No. | ml-ben | ml | ml | ml | ml | ml | ml | ml |
| 1. | 4.0 | - | - | - | - | 2.0 | 0.5 | 1.5 |
| 2. | 4.0 | - | - | 0.5 | - | 2.0 | 0.5 | 1.0 |
| 3. | 4.0 | - | 0.5 | - | - | 2.0 | 0.5 | 1.0 |
| 4. | 4.0 | 0.5 | - | - | - | 2.0 | 0.5 | 1.0 |
| 5. | 4.0 | - | 0.5 | 0.5 | - | 2.0 | 0.5 | 0.5 |
| 6. | 4.0 | 0.5 | - | 0.5 | - | 2.0 | 0.5 | 0.5 |
| 7. | 4.0 | 0.5 | 0.5 | - | - | 2.0 | 0.5 | 0.5 |
| 8. | 4.0 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | - | 2.0 | 0.5 | - |
| 9. | 4.0 | - | - | - | - | - | 0.5 | 3.5 |
| 10. | 4.0 | - | - | - | 0.5 | 2.0 | - | 1.5 |
| 11. | 4.0 | - | - | 0.5 | 0.5 | 2.0 | - | 1.0 |
| 12. | 4.0 | - | 0.5 | - | 0.5 | 2.0 | - | 1.0 |
| 13. | 4.0 | 0.5 | - | - | 0.5 | 2.0 | - | 1.0 |
| 14. | 4.0 | - | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 2.0 | - | 0.5 |
| 15. | 4.0 | 0.5 | - | 0.5 | 0.5 | 2.0 | - | 0.5 |
| 16. | 4.0 | 0.5 | 0.5 | - | 0.5 | 2.0 | - | 0.5 |
| 17. | 4.0 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 2.0 | - | - |
| 18. | 4.0 | - | - | - | 0.5 | - | - | 3.5 |

### 4.1.3.VIZSGÁLAT

A csöveket lezártuk, tartalmukat forgatással homogenizáltuk, majd 310 K -os légtermosztátba helyeztük. Az inkubáció során a csövek tartalmát azonos időnként (t=15 min) a csövek tartalmának forgatásával reszuszpendáltuk.

A mintákat 180 percen keresztül inkubáltuk. A csövek tartalmát minden mintavétel előtt, azaz a 0, 60, 120, 180. percben forgatással óvatosan homogenizáltuk. A mintavétel és a

centrifugálás után (3000 x g, 10 min., 0 - +4 $^0$C ) a felülúszóknak meghatároztuk a K, Na, hemoglobin, glükóz és inzulin koncentrációját. A vizsgálati módszer kritikus pontjait (hemolízis) a felülúszók hemoglobin, ill. $Na^+$ és $K^+$ koncentrációjának mérésével ellenőriztük. A $Na^+$ és $K^+$ ionkoncentrációkat lángfotometriásan határoztuk meg. A felülúszók glükóz-koncentrációját antron-reagenst használva spektrofotometriásan mértük (Roe). A felülúszók inzulin szintjét $^{125}$I RIA kittel (IZINTA) mértük. A hemoglobin-koncentrációt benzidin reagens segítségével, spektrofotometriás úton mértük ( Andrews és Brooks, 1981).

## EREDMÉNYEK

Az eredményeket három alkalommal ismételt méréssorozatokból kaptuk, ahol mindig három párhuzamos mérést végeztünk. Az eredményeket átlag ± SEM értékben tüntettük fel.
Szignifikáns különbséget észleltünk ($p<0.05$) a kontroll csoporthoz viszonyítva.
A glükóz és az inzulin meghatározás statisztikai vizsgálata:
A glükóz meghatározás megbízhatósági jellemzőit az összeméréskor kapott 16 glükóz koncentráció szórásából becsülhetjük. A 16 darab mintára CV= 4.2 %.
Feltételezzük, hogy minden mért adat ± 4.2 % relatív hibával terhelt. A minták glükóz tartalmát az összemérés utáni glükóz koncentrációra vonatkoztatva %-ban adtuk meg, a következő képlet szerint:
$G= 100 * g/A_g$, ahol

G= a vizsgált minta mért glükóz koncentrációja mM/l

$A_g$= a minták glükóz koncentrációja az összeméréskor, átlag

A számított érték (G) becsült hibája:

$\partial G/\partial g = 100 / A_g =$ 166,2510391

$\partial G/\partial A_g = -100 * g / A_g =$ $-276,39 * g$

$s_g = 0,042 * g$

$s_{Ag} = 0,042 * 0,6015 / 4 =$ 0,00631575

$S_G = 7,2 * g$

Az inzulin koncentráció mérési adatainak megbízhatósága:
Az inzulin koncentrációk meghatározását $^{125}$I RIA-kit (IZINTA-Hungary) felhasználásával végezték. A dolgozatban felhasznált koncentráció adatokat 3 mérés számtani közepeként képeztük. Az analízist végző laboratórium megadta a CV% értékeket. A standard errort

ezekből számítottuk és a diagrammban mint hibasávokat ábrázoltuk. A hibasávok kis terjedelme miatt ezek közül néhány nem látható az ábrán.

A STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉS TÁBLÁZATAI:

2. táblázat A glükóz fogyás változása a különböző összetételű minták esetén szelén nélkül

| | Szelén nélkül | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Összetétel | Változás a kontrollhoz képest, D | A különbség standard deviációja $\sigma_D$ | Konfidencia határok | | Signifikancia, p (95%-os kétoldali) |
| | | | Alsó | Felső | |
| Mg | -9,14 | 5,18 | -19,286 | 1,000 | 0,0773 |
| | -14,96 | 3,69 | -22,201 | -7,721 | 0,0001 |
| | 0,00 | 2,75 | -5,388 | 5,388 | 1,0000 |
| Cr | -11,64 | 5,26 | -21,938 | -1,335 | 0,0268 |
| | -11,64 | 3,58 | -18,656 | -4,617 | 0,0012 |
| | -14,96 | 3,24 | -21,311 | -8,611 | 0,0000 |
| Inzulin | -16,63 | 5,42 | -27,252 | -6,004 | 0,0022 |
| | -18,29 | 3,81 | -25,751 | -10,820 | 0,0000 |
| | -14,96 | 3,24 | -21,311 | -8,611 | 0,0000 |
| Mg+Cr | -9,14 | 5,18 | -19,286 | 1,000 | 0,0773 |
| | -22,44 | 3,95 | -30,193 | -14,690 | 0,0000 |
| | -14,96 | 3,24 | -21,311 | -8,611 | 0,0000 |
| Inzulin+Mg | -5,82 | 5,07 | -15,753 | 4,117 | 0,2510 |
| | -13,30 | 3,64 | -20,428 | -6,169 | 0,0003 |
| | -4,16 | 2,88 | -9,799 | 1,488 | 0,1489 |
| Inzulin+Cr | -5,82 | 5,07 | -15,753 | 4,117 | 0,2510 |
| | -7,48 | 3,44 | -14,231 | -0,730 | 0,0299 |
| | -1,66 | 2,80 | -7,151 | 3,827 | 0,5528 |
| Inzulin+Cr+Mg | -3,32 | 4,99 | -13,106 | 6,456 | 0,5053 |
| | -14,96 | 3,69 | -22,201 | -7,721 | 0,0001 |
| | -14,96 | 3,24 | -21,311 | -8,611 | 0,0000 |

3. táblázat A glükóz fogyás változása a különböző összetételű minták esetén, szelén hozzáadásával

| | Szelénnel | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Összetétel** | **Változás a kontrollhoz képest, D** | **A különbség standard deviációja $\sigma_D$** | **Konfidencia határok** | | **Signifikancia, p (95%-os kétoldali)** |
| | | | **Alsó** | **Felső** | |
| | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| **Mg** | 3,32 | 3,57 | -3,663 | 10,312 | 0,3511 |
| | -16,62 | 2,75 | -22,005 | -11,241 | 0,0000 |
| | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| **Cr** | 14,96 | 3,24 | 8,611 | 21,311 | 0,0000 |
| | 12,47 | 1,85 | 8,847 | 16,088 | 0,0000 |
| | -11,64 | 5,10 | -21,639 | -1,633 | 0,0226 |
| **Inzulin** | 7,48 | 3,44 | 0,730 | 14,231 | 0,0299 |
| | 4,99 | 2,04 | 0,984 | 8,990 | 0,0146 |
| | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| **Mg+Cr** | 0,00 | 3,67 | -7,185 | 7,185 | 1,0000 |
| | -1,66 | 2,24 | -6,054 | 2,729 | 0,4582 |
| | -17,44 | 5,64 | -28,488 | -6,388 | 0,0020 |
| **Inzulin+Mg** | -1,66 | 3,72 | -8,947 | 5,623 | 0,6547 |
| | -10,81 | 2,54 | -15,787 | -5,823 | 0,0000 |
| | -4,16 | 4,86 | -13,689 | 5,377 | 0,3929 |
| **Inzulin+Cr** | -4,16 | 3,80 | -11,594 | 3,282 | 0,2735 |
| | 0,00 | 2,19 | -4,291 | 4,291 | 1,0000 |
| | -4,16 | 4,86 | -13,689 | 5,377 | 0,3929 |
| **Inzulin+Cr+Mg** | 0,00 | 3,67 | -7,185 | 7,185 | 1,0000 |
| | 15,79 | 1,77 | 12,318 | 19,267 | 0,0000 |

4. táblázat Az inzulinszint változása a különböző összetételű minták esetén, szelén nélkül

| | Szelén nélkül | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Összetétel** | **Változás a kontrollhoz képest, D** | **A különbség standard deviációja σD** | **Konfidencia határok** | | **Signifikancia, p (95%-os kétoldali)** |
| | | | **Alsó** | **Felső** | |
| **Mg** | 1,62 | 0,64 | 0,356 | 2,878 | 0,0120 |
| | -0,14 | 0,19 | -0,502 | 0,226 | 0,4569 |
| | -1,58 | 0,46 | -2,477 | -0,689 | 0,0005 |
| **Cr** | 1,43 | 0,90 | -0,333 | 3,193 | 0,1118 |
| | -1,49 | 0,71 | -2,881 | -0,107 | 0,0347 |
| | 0,00 | 0,42 | -0,827 | 0,823 | 0,9962 |
| **Inzulin** | 61,13 | 0,57 | 60,006 | 62,248 | 0,0000 |
| | 44,67 | 0,12 | 44,427 | 44,911 | 0,0000 |
| | 42,04 | 3,01 | 36,137 | 47,935 | 0,0000 |
| **Mg+Cr** | 2,38 | 2,24 | -2,014 | 6,780 | 0,2881 |
| | 0,13 | 0,53 | -0,904 | 1,158 | 0,8092 |
| | 0,49 | 0,36 | -0,220 | 1,190 | 0,1776 |
| **Inzulin+Mg** | 114,29 | 7,84 | 98,930 | 129,652 | 0,0000 |
| | 69,52 | 6,82 | 56,159 | 82,887 | 0,0000 |
| | 67,44 | 0,69 | 66,085 | 68,795 | 0,0000 |
| **Inzulin+Cr** | 105,78 | 5,54 | 94,926 | 116,624 | 0,0000 |
| | 47,67 | 0,31 | 47,058 | 48,276 | 0,0000 |
| | 57,56 | 2,22 | 53,206 | 61,912 | 0,0000 |
| **Inzulin+Cr+Mg** | 113,90 | 6,02 | 102,096 | 125,708 | 0,0000 |
| | 70,51 | 0,12 | 70,264 | 70,754 | 0,0000 |
| | 89,18 | 1,48 | 86,271 | 92,089 | 0,0000 |

5.. táblázat A glükóz %-os fogyása az idő függvényében

| | Szelénnel | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Összetétel** | **Változás a kontrollhoz képest, D** | **A különbség standard deviációja $\sigma_D$** | **Konfidencia határok** | | **Signifikancia, p (95%-os kétoldali)** |
| | | | **Alsó** | **Felső** | |
| **Mg** | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| | 3,32 | 3,57 | -3,663 | 10,312 | 0,3511 |
| | -16,62 | 2,75 | -22,005 | -11,241 | 0,0000 |
| **Cr** | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| | 14,96 | 3,24 | 8,611 | 21,311 | 0,0000 |
| | 12,47 | 1,85 | 8,847 | 16,088 | 0,0000 |
| **Inzulin** | -11,64 | 5,10 | -21,639 | -1,633 | 0,0226 |
| | 7,48 | 3,44 | 0,730 | 14,231 | 0,0299 |
| | 4,99 | 2,04 | 0,984 | 8,990 | 0,0146 |
| **Mg+Cr** | 0,00 | 4,73 | -9,280 | 9,280 | 1,0000 |
| | 0,00 | 3,67 | -7,185 | 7,185 | 1,0000 |
| | -1,66 | 2,24 | -6,054 | 2,729 | 0,4582 |
| **Inzulin+Mg** | -17,44 | 5,64 | -28,488 | -6,388 | 0,0020 |
| | -1,66 | 3,72 | -8,947 | 5,623 | 0,6547 |
| | -10,81 | 2,54 | -15,787 | -5,823 | 0,0000 |
| **Inzulin+Cr** | -4,16 | 4,86 | -13,689 | 5,377 | 0,3929 |
| | -4,16 | 3,80 | -11,594 | 3,282 | 0,2735 |
| | 0,00 | 2,19 | -4,291 | 4,291 | 1,0000 |
| **Inzulin+Cr+Mg** | -4,16 | 4,86 | -13,689 | 5,377 | 0,3929 |
| | 0,00 | 3,67 | -7,185 | 7,185 | 1,0000 |
| | 15,79 | 1,77 | 12,318 | 19,267 | 0,0000 |

### 4.1.4.1. Hemoglobin koncentrációk:

A mért értékek a 180. percben sem haladták meg a 15-20 mg % -os koncentrációt. Az inkubációs médium összetételével összefüggő változást nem észleltem, ezért az egyes értékek közlésétől eltekintek.

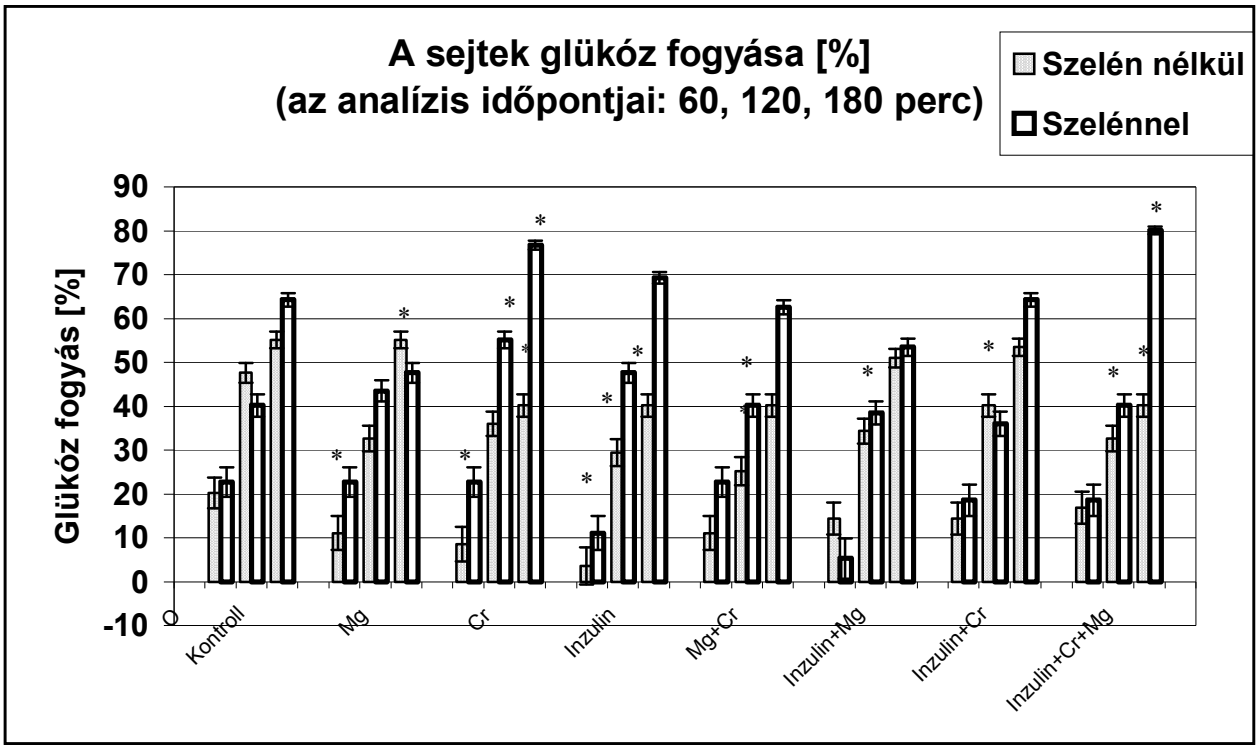
### 4.1.4.2. $K^+$ - ionkoncentrációk

A talált értékek a 180. percben sem haladták meg a 2.4 mM/l -es koncentrációt.

Az inkubációs médium összetételével összefüggő változást ezen paraméter esetén sem észleltem, ezért az egyes értékek közlésétől eltekintek.

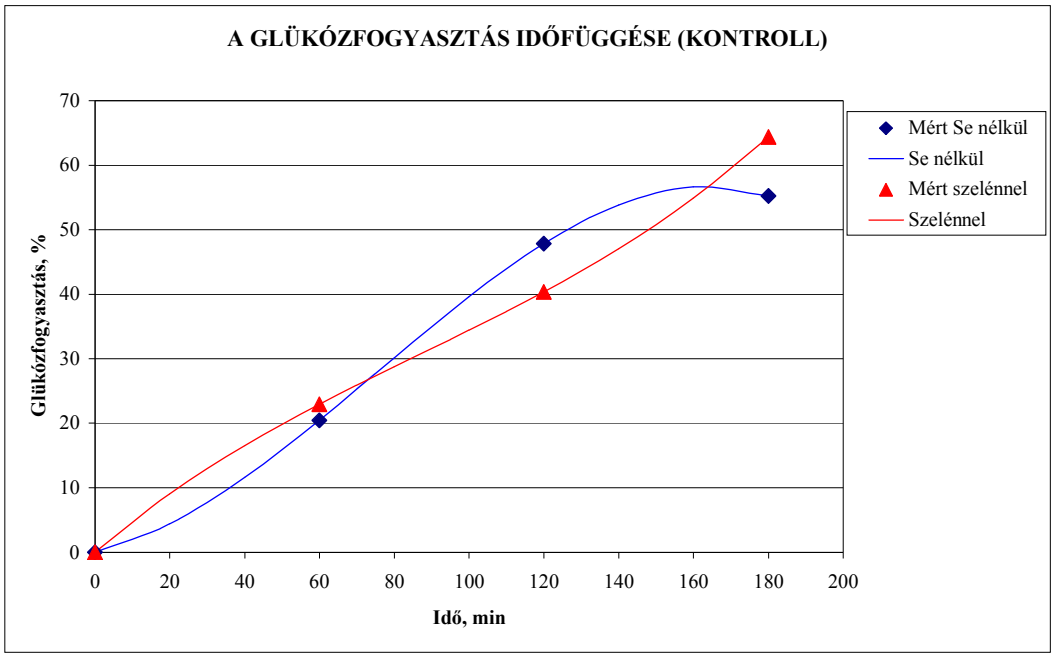
### 4.1.4.3. Glükózkoncentrációk

Az 1. ábra a glükóz fogyások % -os változását mutatja a különböző mintákban a kontrollhoz hasonlítva, a különböző mintavételi időkben.

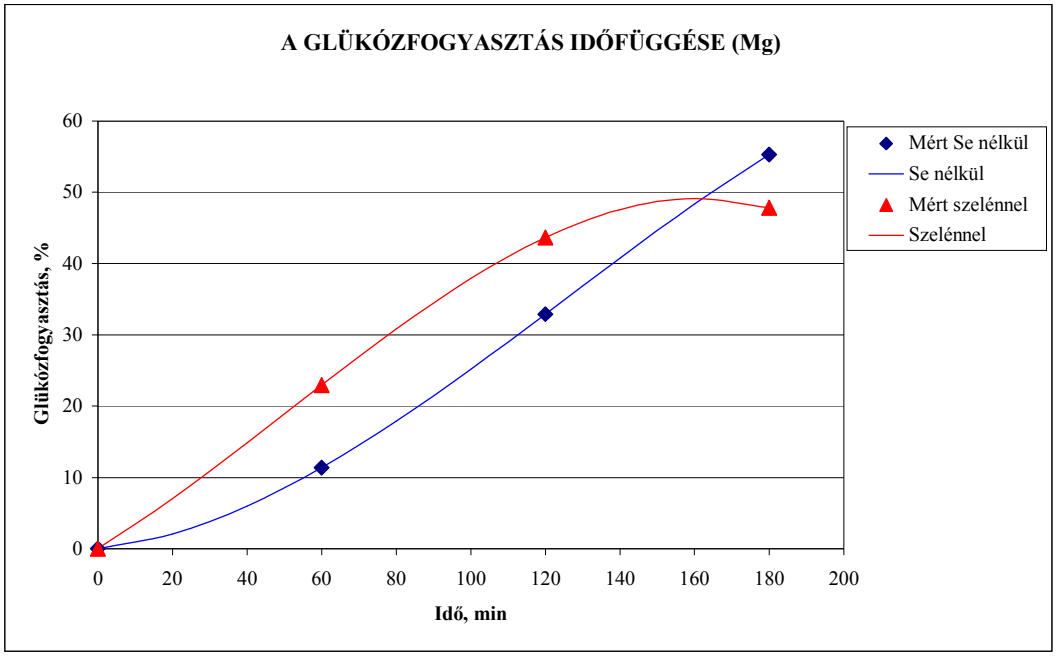



**1.ábra** A glükóz koncentrációk átlagát mutatja a különböző mintákban a kontrollhoz hasonlítva, a három különböző mintavételi időpontokban. A vizsgált értékeken kívül a szórást tüntettük fel. * = P < 0,05 a kontroll csoport mérési eredményeivel összehasonlítva.

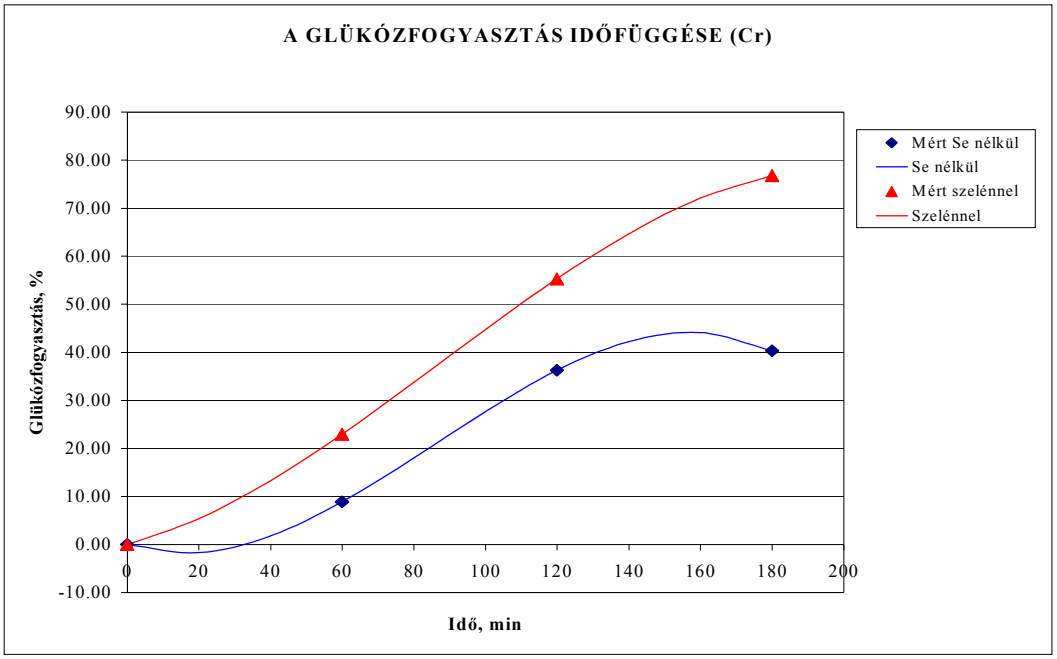
Felhívnám a figyelmet a kontroll minta és a Se-tartalmú relatív kontroll minta glükóz fogyasztása közötti különbségre. A Se -ionok megjelenése az inkubációs médiumokban a glükóz fogyását mérhetően befolyásolja, a különbségek a 180. percben a legkifejezettebbek.
A 2 - 9. ábrákon az egyes mintaösszetételek esetén észlelt % -os glükóz fogyások az idő függvényeként kerültek ábrázolásra.



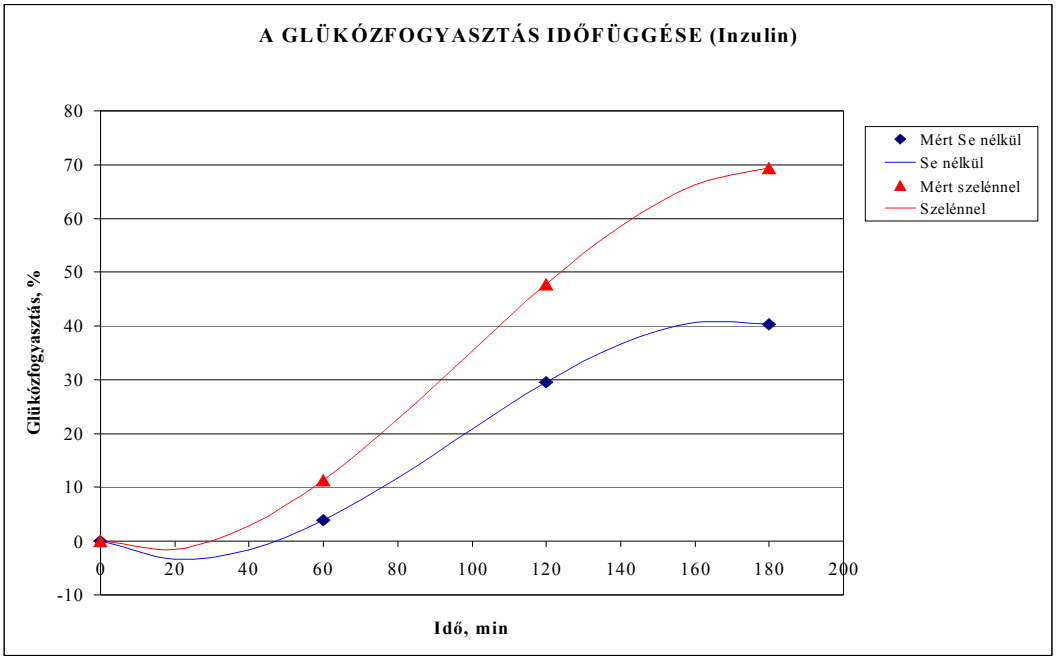

2. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



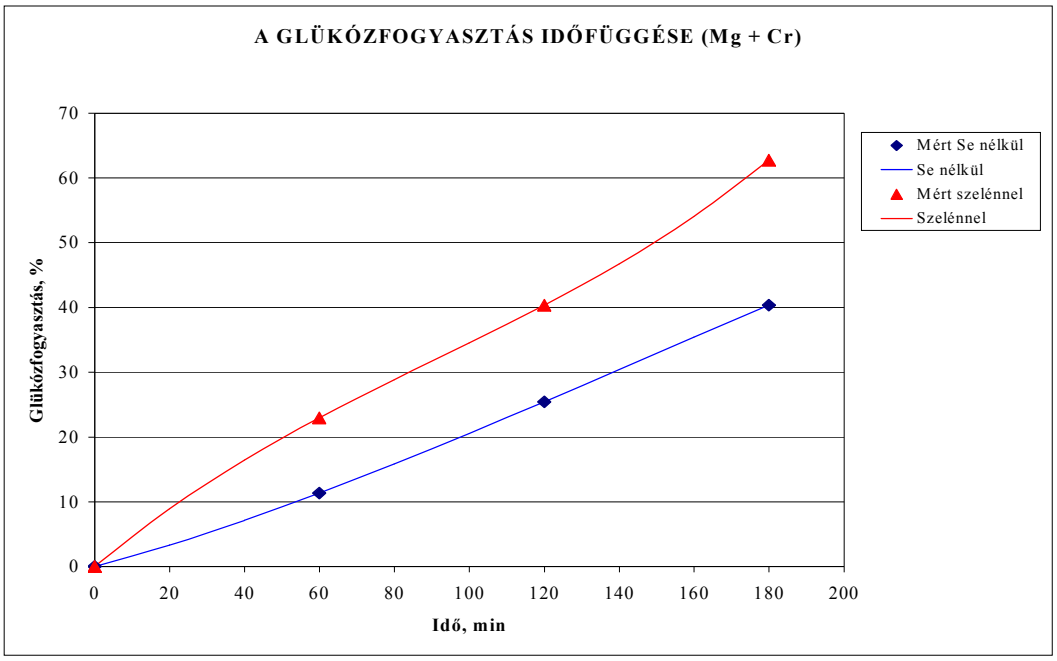

3. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



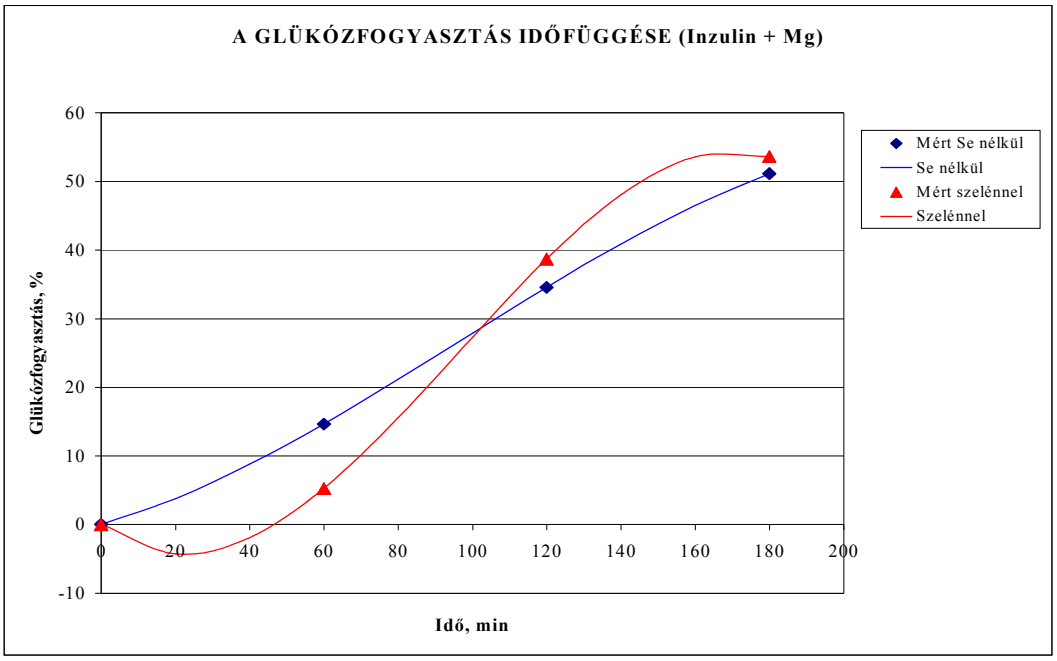

4. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



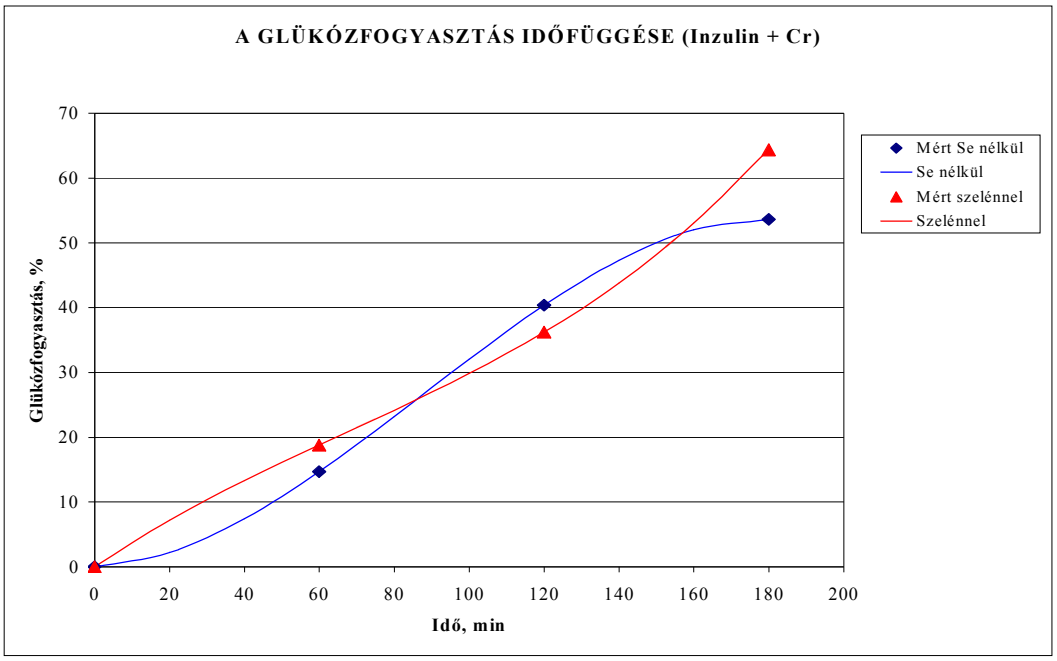

5. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



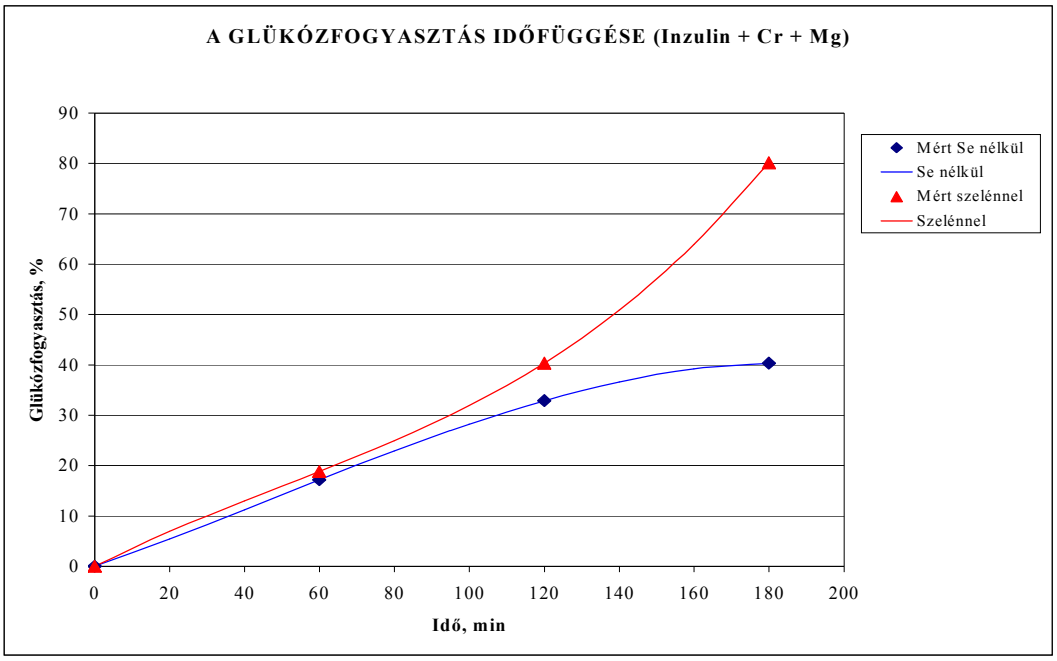

6. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye




7. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye




8. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



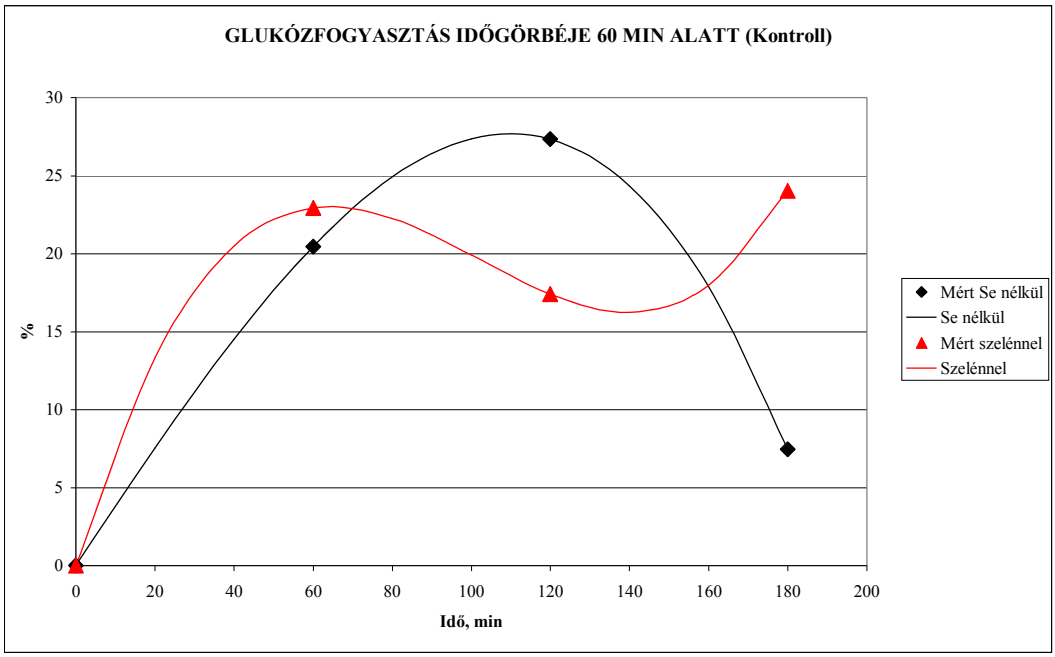

9. **Ábra** a glükózfogyasztás időfüggvénye

A vizsgálat teljes időtartama alatt a különböző mintaösszetételek esetében észlelt glükóz fogyasztásokat Se -ionok jelen, ill. távollétében, mint a % -os glülóz fogyasztás - idő görbék idő szerinti határozott integráljait ($AUC_{0\text{-}180}$) a 2. táblázat foglalja össze.

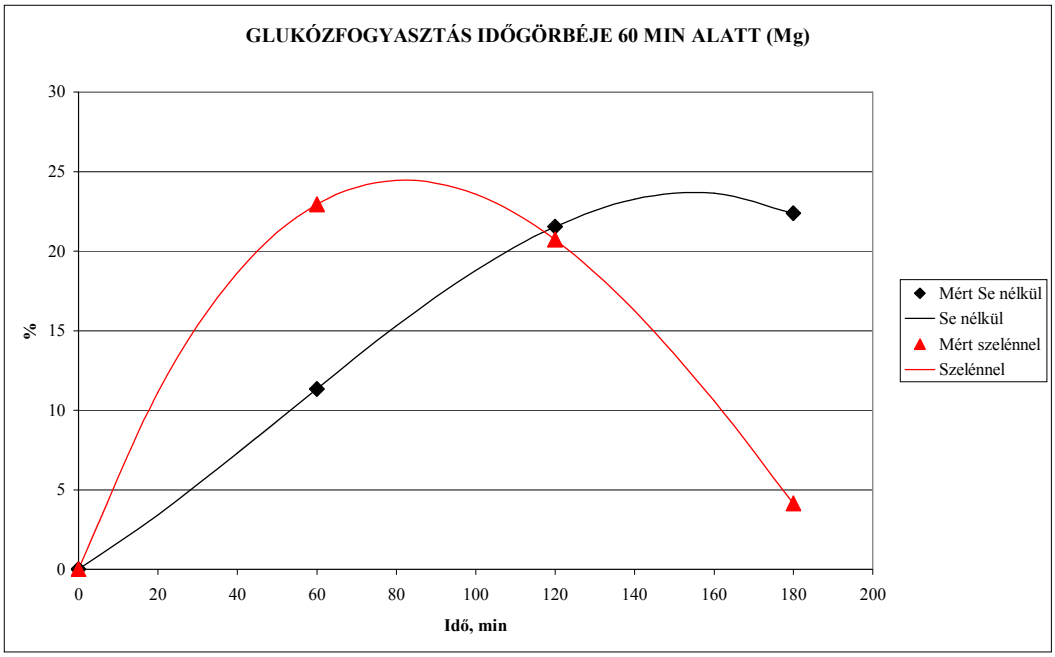
6. Táblázat. Az egyes mintaösszetételek esetén a vizsgálat időtartama alatt észlelt glükóz fogyasztások idő szerinti integráljai Se -ionok jelen, ill. távollétében

| Minta összetétele | szelén nélkül | | szelénnel | |
|---|---|---|---|---|
| | Analitikus integr. | Numerikus integr. | Analitikus integr. | Numerikus integr. |
| K1 | 5850.5 | 5753.0 | 5720.0 | 5728.1 |
| Mg | 4228.5 | 4311.2 | 5570.8 | 5429.8 |
| Cr | 3948.9 | 3913.5 | 7006.3 | 6995.9 |
| Inzulin | 3165.8 | 3217.5 | 5552.2 | 5628.7 |
| Mg+Cr | 3389.6 | 3416.4 | 5682.7 | 5678.4 |
| Inzulin+Mg | 4470.9 | 4485.2 | 4172.9 | 4245.3 |
| Inzulin+Cr | 4918.3 | 4907.8 | 5160.7 | 5231.0 |
| Inzulin+Cr+Mg | 4284.4 | 4211.8 | 5794.5 | 5951.8 |

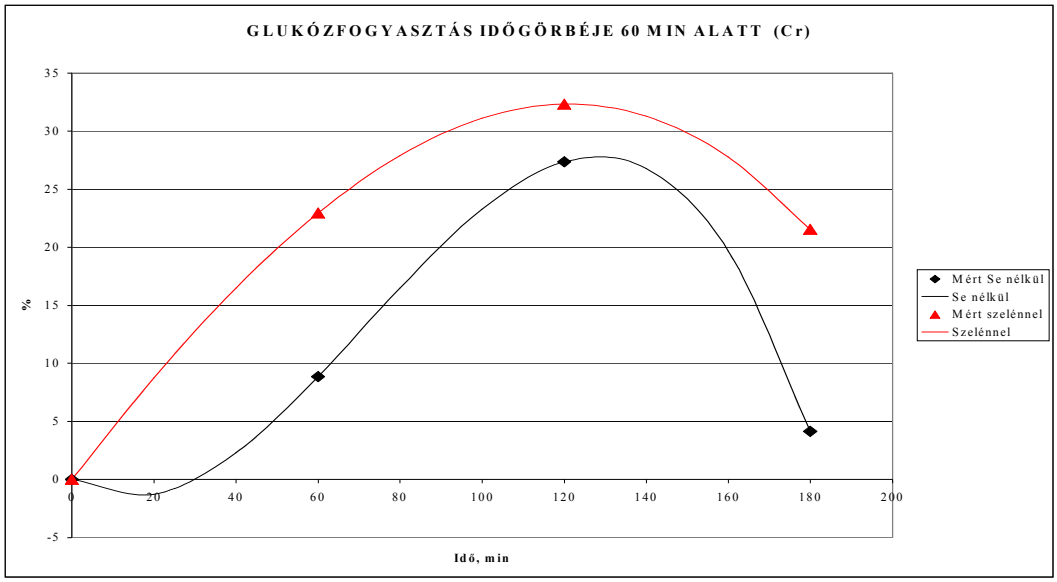
A 10-17. ábrákon a különböző mintaösszetételek esetén, Se -ionok jelen, ill. távollétében, a vizsgálat egyes időintervallumaiban észlelt % -os glükóz fogyasztások kerültek ábrázolásra a vizsgálati idő függvényeként.



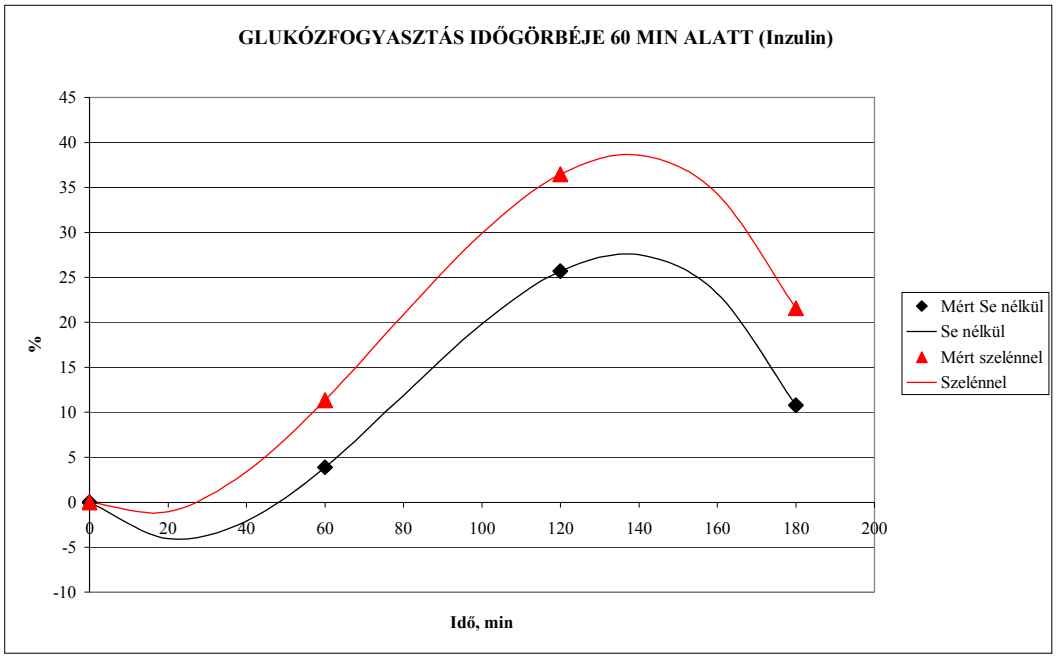

*10*. Ábra **A** a glükózfogyasztás időfüggvénye



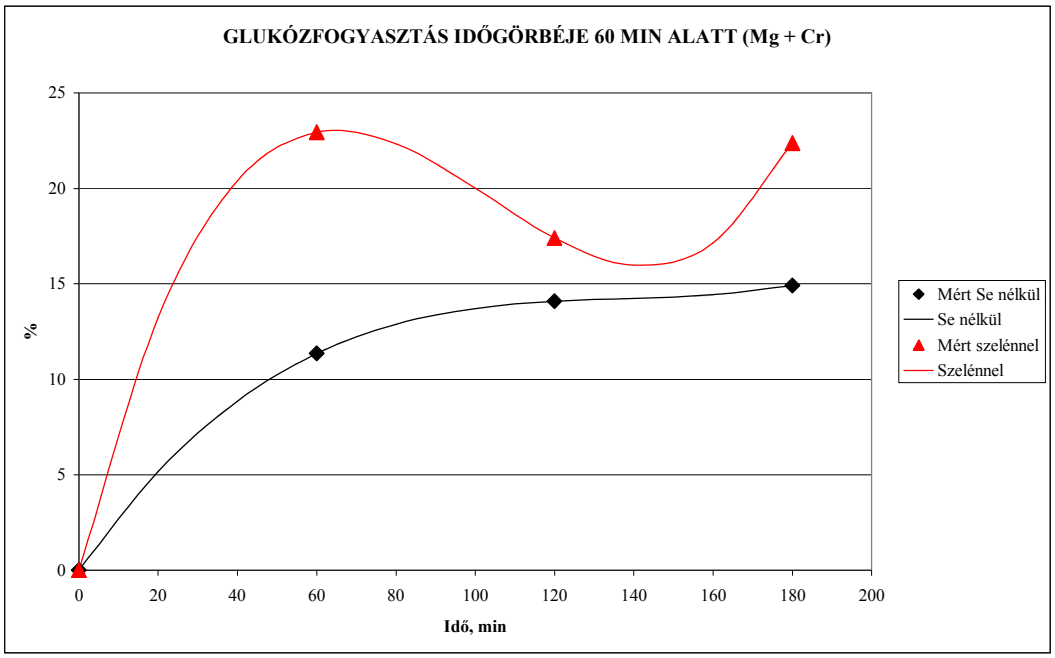

*11*. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



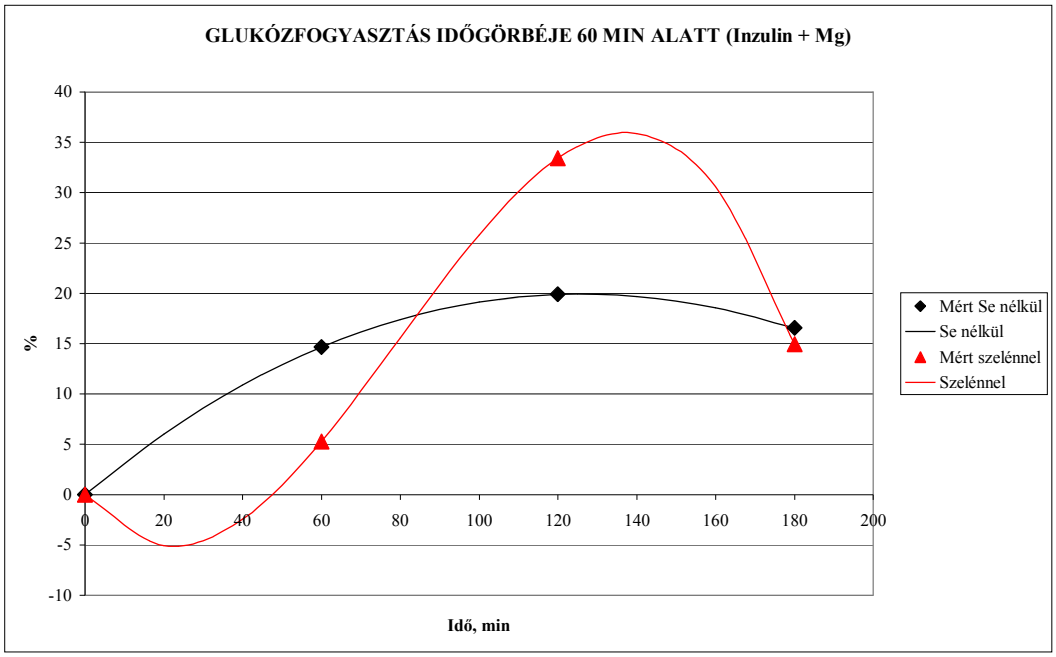

12. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



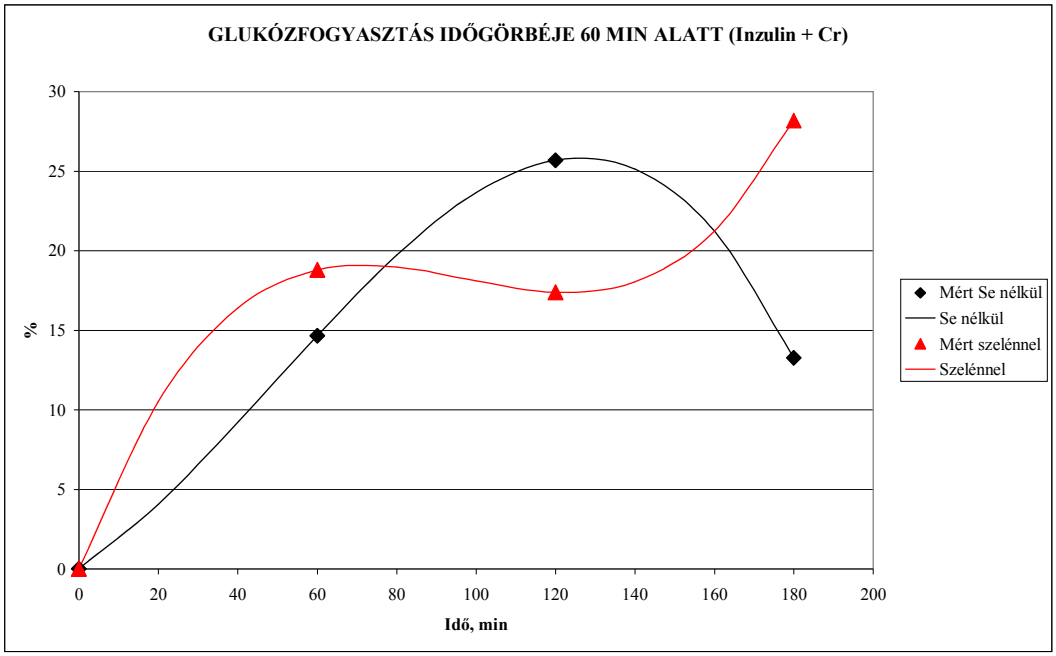

13. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye



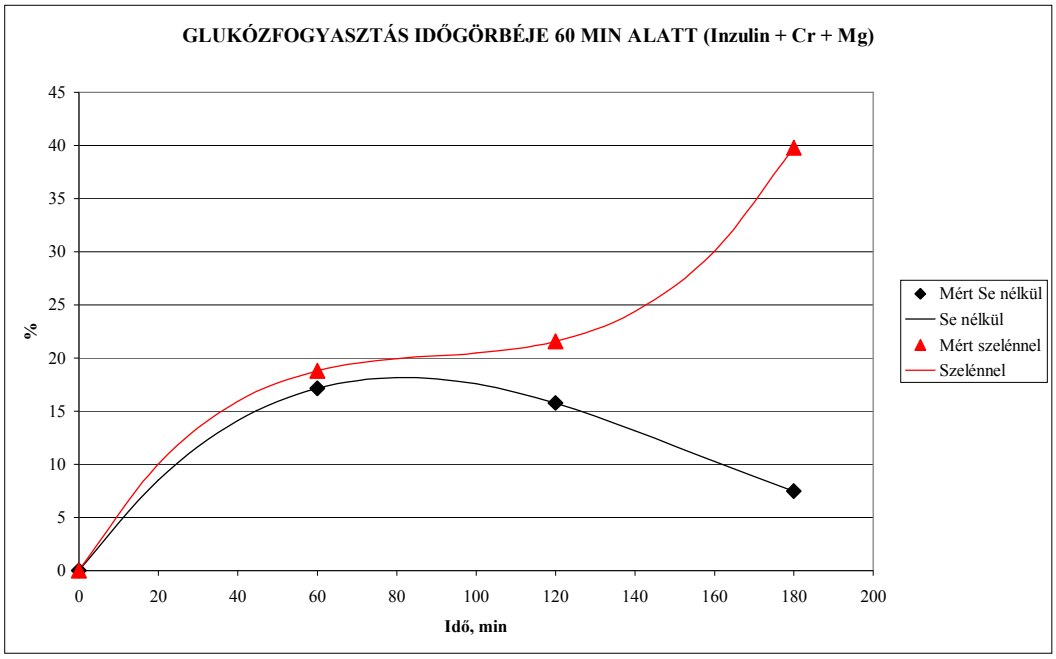

14. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye




15. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye




16. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye




17. Ábra a glükózfogyasztás időfüggvénye

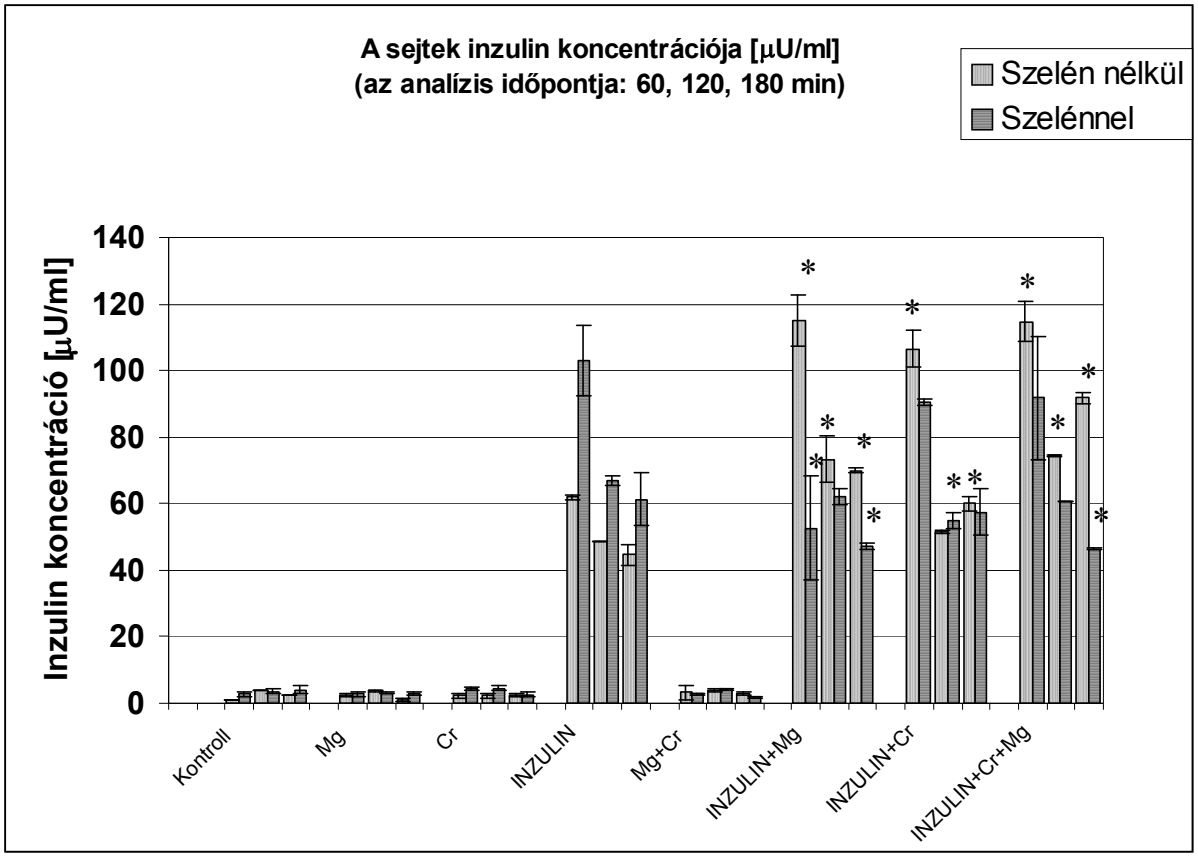
A 10. - 17. ábrákon látható görbék alatti területeket (AUC) a 7. táblázat foglalja össze.

7. Táblázat. Az egyes mintaösszetételek esetén a vizsgálat egyes időintervallumai alatt észlelt glükóz fogyasztások idő szerinti integráljai Se -ionok jelen, ill. távollétében

| Minta összetétele | szelén nélkül | | szelénnel | |
|---|---|---|---|---|
| | Analitikus integr. | Numerikus integr. | Analitikus integr. | Numerikus integr. |
| K1 | 3394.2 | 3091.7 | 3263.7 | 3141.4 |
| Mg | 2723.1 | 2644.2 | 3040.0 | 2743.7 |
| Cr | 2536.6 | 2296.2 | 4214.5 | 3961.7 |
| Inzulin | 2238.3 | 2097.4 | 3711.2 | 3514.2 |
| Mg+Cr | 2051.9 | 1973.1 | 3226.4 | 3091.7 |
| Inzulin+Mg | 2704.4 | 2569.7 | 2946.8 | 2768.5 |
| Inzulin+Cr | 3021.4 | 2818.2 | 3077.3 | 3017.1 |
| Inzulin+Cr+Mg | 2387.5 | 2196.8 | 3617.9 | 3613.7 |

### 4.1.4.4. Inzulin koncentrációk

A 18. ábrán az inzulin-szint változások követhetők a fentiekben analizált mintákban a vizsgálat különböző időpontjaiban.




*18*. Ábra a sejtek inzulinkoncentrációjának változása az idő függvényében, a különböző összetételű minták esetén

A 18. ábrán bemutatott, a különböző mintaösszetételek esetén észlelt inzulin- koncentráció - idő diagramok idő szerinti integráljait a 4. táblázat foglalja össze. A vizsgált értékeken kívül a szórást tüntettük fel. * = $P < 0,05$ a kontrollhoz viszonyítva.

7. Táblázat Az egyes mintaösszetételek esetén a vizsgálat egyes időpontjaiban észlelt inzulinkoncentráció - idő függvények idő szerinti határozott (0 - 180 min) integrál értékei Se - ionok jelen, ill. távollétében

| Minta összetétele | szelén nélkül | | szelénnel | |
|---|---|---|---|---|
| | Analitikus integr. | Numerikus integr. | Analitikus integr. | Numerikus integr. |
| Kl | 517. 4 | 500. 6 | 365. 1 | 349. 5 |
| Mg | 455. 7 | 433. 2 | 429. 3 | 390. 8 |
| Cr | 658. 7 | 611. 8 | 360. 7 | 345. 6 |
| Inzulin | 12833. 5 | 12020. 7 | 8452. 1 | 7958. 3 |
| Mg+Cr | 502. 1 | 463. 4 | 545. 4 | 514. 7 |
| Inzulin+Mg | 8794. 8 | 8290. 1 | 14289. 9 | 13401. 5 |
| Inzulin+Cr | 11086. 4 | 10427. 2 | 12017. 5 | 11282. 8 |
| Inzulin+Cr+Mg | 11323. 6 | 10529. 5 | 15021. 9 | 14269. 6 |

Látható, hogy a szelén és egyéb ionok jelenléte a közegben bonyolult képet eredményez.

Az ábrán jól látható, hogy a szeléntartalmú mintákban minden esetben magasabb inzulinkoncentrációk mérhetők, mint a megfelelő szelént nem tartalmazó, kontrollnak tekinthető mintákban.

### 4.1.5. MEGBESZÉLÉS

#### 4.1.5.1. $K^+$ és hemoglobin koncentrációk alakulása az inkubációs médiumban

Ezen vizsgálatok célja az volt, hogy figyelemmel kísérhessük a mintákban a vörösvértestek integritásának esetleges változását az inkubációs eljárás során. Feltételeztük, hogy a sejtmembránok részleges, vagy teljes integritásának megszűnése jól követhető az inkubációs médium káliumtartalmának, ill. hemoglobin tartalmának változásán keresztül. Tekintettel arra a tényre, hogy az inkubációs médium ezeket a komponenseket az összemérés időpontjában nem tartalmazta, valamint arra, hogy a celluláris térben a kálium és hemoglobin koncentrációja magas, detektálásukra pedig érzékeny, egyszerű analitikai módszerek állnak rendelkezésre, az alkalmazott módszerek alkalmasnak tűntek a felvetett kérdések megválaszolására.

Ahogy azt az 4.3.2. és 4.3.3. pontokban említettem, az inkubációs idő előre haladtával mind a hemoglobin, mind a kálium koncentrációja az inkubációs médiumban fokozatosan

növekedett. A 180. perc végén vett mintákban a kálium koncentrációja nem haladta meg a 0.4 - 0.5 mM/l értéket. Figyelembe véve a sejtszuszpenzió - inkubációs médium térfogatok arányát (1 : 1), valamint azt a tényt, hogy a sejtek belsejében a kálium koncentrációja eléri a 70 - 90 mM/l -es értéket, továbbá feltételezve, hogy az összes mért kálium az inkubációs médiumban a sejtmembrán integritás megszűnésének következménye, kiszámítható a sérült sejtek hányada. Ezen gondolatmenetet követve, a sejten belüli káliumkoncentráció alsó határát, valamint az inkubációs médiumban mért káliumkoncentráció felső határát -mint legkedvezőtlenebb szélső értékeket- tekintve, látható, hogy a sejtek kevesebb mint 0.7 % -ának szűnt meg az integritása. A valóságban természetesen jóval kevesebb sejt integritása sérült, hiszen a sejtközi médiumban mért kálium mennyiségének túlnyomó része passzív diffúziós úton került ki az egyébként ép membránnal rendelkező sejtek belsejéből a sejtközi folyadékba, tekintettel a koncentrációgrádiens nagyságára és a hosszú inkubációs időre (3 óra). Ez utóbbi állítást erősítik a hemoglobin koncentrációk méréséből levonható következtetések is. Elvégezve a számítást, amelyben az átlagos hemoglobinkoncentrációt a vörösvértestekben 261 g/l -nek (vér hemoglobin cc.: 145 g/l, HTC: 0.5 l/l, vvt. massza HTC: 0.9 l/l), az inkubáció végén (180. perc) a sejtközi inkubációs médiumban pedig eddigelé a legmagasabb mért értéket, azaz 36.3 mg% -ot tekintve alapul, az integritásukat vesztett sejtek arányára 0.14 % adódik.

***<u>Levonható következtetések:</u>***

- az alkalmazott inkubációs médium összetétele nem veszélyeztette számottevő mértékben a vizsgálatok során a membránok integritását,
- a vizsgált vegyületek szintén strukturbarátnak bizonyultak az alkalmazott koncentrációkban és vegyület formában,
- a kálium kiáramlási adatokból becsült sérült struktúra hányad a valóságos értéknél alacsonyabb, mivel a sejtközi térbe került kálium jelentős hányada nem a strukturák integritásának sérülése során, hanem diffúziós mechanizmus útján jut a vizsgált térfogatba.

Összegezve: A kidolgozott modell és a mellé rendelt vizsgálati körülmények alkalmasnak látszanak a kutatási cél megvalósítására.

### 4.1.5.2. A glükózkoncentrációk összetételtől függő változása az inkubációs médiumokban

A sejtszuszpenzió glükóz felhasználásának mérőszámául az inkubációs médiumból eltűnt glükóz mennyiségét használtuk az alkalmazott összes glükóz mennyiségének százalékában kifejezve. A különböző kémiai összetételű inkubációs médiumokkal végzett kísérletek során kapott eredményeket az 1. ábra foglalja össze. A mérési eredmények értékelése során a következő fő megállapításokat tettük.

1./ A várakozásnak megfelelően az inkubációs idő előre haladtával a felhasznált glükóz mennyisége az előző időpontban mért értékhez képest növekedett. A maximális felhasználást minden összetétel esetében az inkubáció 180. percében észleltük.

*Következtetés:*

Úgy tűnik, hogy a vizsgálat időtartama alatt sikerült a sejtek életfunkcióit végig megtartani, azaz a sejtek éltek.

2./ A 180. percben (ahol az összegződő hibák nagysága a legkisebb, a mérés biztonsága pedig a legnagyobb) a szelént nem tartalmazó, különböző kémiai összetételű inkubációs médiumokkal készített minták eseteiben észlelt glükóz fogyasztásokat egymáshoz hasonlítva látható, hogy a közel fiziológiás összetételű kontroll (K1) glükóz felhasználása a legnagyobb, értékét csak a csak Mg -ot, inzulin+Cr ot, és inzulin+Mg -ot tartalmazó mintákban észlelt értékek közelítik.

*Következtetés:*

Kézenfekvőnek látszik a következtetés, hogy egy egészséges sejtszuszpenzió a vizsgált paramétert tekintve a legoptimálisabban fiziológiás körülmények között működik.

3./ A várakozással ellentétben a glükóz felhasználása inzulin jelenlétében jelentősen, hozzávetőleg 15 % -kal csökkent a 180. perces analízis eredményeket hasonlítva egymáshoz.

*Következtetés:*

Az inzulin az alkalmazott mennyiségben nem fokozta mérhető mértékben a vörösvértest membránok permeabilitását glükózra, vagy ha növelte is a membránok permeabilitását, a glükóz felhasználása során a glükóz membránon keresztüli transzportja nem rátalimitáló lépése a glükóz felhasználás folyamatának.

4./ A vizsgálat végén (180. perc) észlelt, Se -ionokat nem tartalmazó, de egyébként azonos összetételű minták glükóz fogyasztásához képest, az összes glükóz fogyasztásának növekedését eredményezi a Se -ionok megjelenése az inkubációs médiumban. A 180. perc végén szelén jelenlétében a legmagasabb értéket az inzulint és Cr + Mg -ionokat tartalmazó

inkubációs médiumban lehetett mérni. Az előbbi értékhez képest a továbbiakban a Cr -ionokat, az inzulint, ill. inzulint és Cr -ionokat tartalmazó inkubációs médiumokban mért értékek fokozatosan csökkentek. A vizsgálat kezdeti, ill. középső szakaszában egyes mintaösszetételek esetén, így pl. a Cr, Mg -ionokat és inzulint tartalmazó minták esetében a 60. és 120. percekben, vagy a Mg -ionokat és inzulint tartalmazó minták esetén a 60. percben a tendencia átmenetileg megfordul.

*Következtetés:*

A Se -ionok megjelenése az előbbiekkel ellentétben a kontroll összetételben mért glükóz fogyasztásnál jelentősen nagyobb glükóz fogyasztást eredményez a fentiekben jelzett mintaösszetételek esetén. A jelenségre több lehetséges magyarázat is szolgálhat, úgymint:

- a vörösvértest szuszpenziók eredendően, vagy előkészítésük (mosás) következtében szelénhiányosak,
- a Se -ionok ismert antioxidáns tulajdonságuk következtében a glükóz metabolizmusát jelentősen növelik,
- a glükóz metabolizmus sebesség meghatározó folyamatában olyan transzportmechanizmusok vagy kulcsenzim(ek) szerepel(nek), amely(ek) aktivitása szelén ionokkal jelentősen fokozható.

Ez utóbbi feltételezést támogatja az a megfigyelés is, hogy a vizsgált folyamat időbeni lefolyása mintaösszetételtől függő jelentős eltérést (a tendencia időleges megfordulása) mutat úgy, hogy a vizsgált időperiódus végén ez a különbség már nem észlelhető. A mintaösszetételtől függő bonyolult időbeniségi változások valós voltát a VI. táblázat adatai, a 180. percben mért értékek igazságtartalmát pedig a VII. táblázat adatai támogatják.

### 4.1.5.3. Az inzulinkoncentrációk összetételtől függő változása az inkubációs médiumokban

A 18. ábrán jól látható, hogy a vörösvértest modell alapállapotban (azon mintaösszetételek, amelyekhez külön nem adtunk inzulint) nem hordoz számottevő mennyiségű (néhány μIU/ml) inzulint, a mintákhoz adott inzulin mennyiségéhez (200 μIU/ml) képest. Az inzulinkoncentrációk változásának értékelése során ezt a csekély járulékot a továbbiakban figyelmen kívül hagytuk.

***A vizsgálatok eredményeinek elemzése során a következő fő megállapításokat tettük:***

1./ Az inzulin eltűnését (lebomlását, vagy penetrálását a vörösvértestekbe) az inkubációs médiumból a csak inzulint tartalmazó minták esetén a Se -ionok jelentősen gátolják.

2./ A Mg- ill. a Cr -ionoknak mind önmagukban, mind együtt alkalmazva azokat, a teljes vizsgálati periódus alatt jelentős inzulint stabilizáló hatása (a mérhető inzulinkoncentrációk alapján) észlelhető az inkubációs médiumban.

3./ A Mg- és Cr -ionok együttes alkalmazása nem eredményezett additív hatást a vizsgált rendszerben.

4./ A Mg- és Cr -ionok inkubációs médiumbeni inzulinkoncentráció csökkenést gátló hatása Se -ionok hatására jelentősen mérséklődik.

5./ A fenti megállapításokat erősítik a VIII. táblázatban foglalt AUC értékek is.

*Következtetés:*

Az mind a 18. ábráról, mind a 8. táblázat adataiból kitűnik, hogy a Cr- és Mg-ionok gátolják az inzulinkoncentráció csökkenését az inkubációs médiumban. Ezen ionok távollétében a Se-ionok hasonló hatása is megfigyelhető. Tekintettel arra, hogy a sejten belüli térben technikai okok miatt az inzulinkoncentáció alakulását nem tudtuk mérni, nem dönthető el teljes bizonyossággal, hogy az észlelt koncentrációváltozások mekkora hányada származik az inzulinmolekula bomlásából, illetve a sejtközi térből a sejten belüli térbe kerülésétől. Valószínűsíthető, hogy a vizsgált ionok elsősorban az inzulinmolekula stabilitásának növekedésén, a lebomlás gátlásán, és nem a membrántranszport, illetve membrán-permeabilitás fokozásán keresztül hatnak.

***Összefoglalva:***

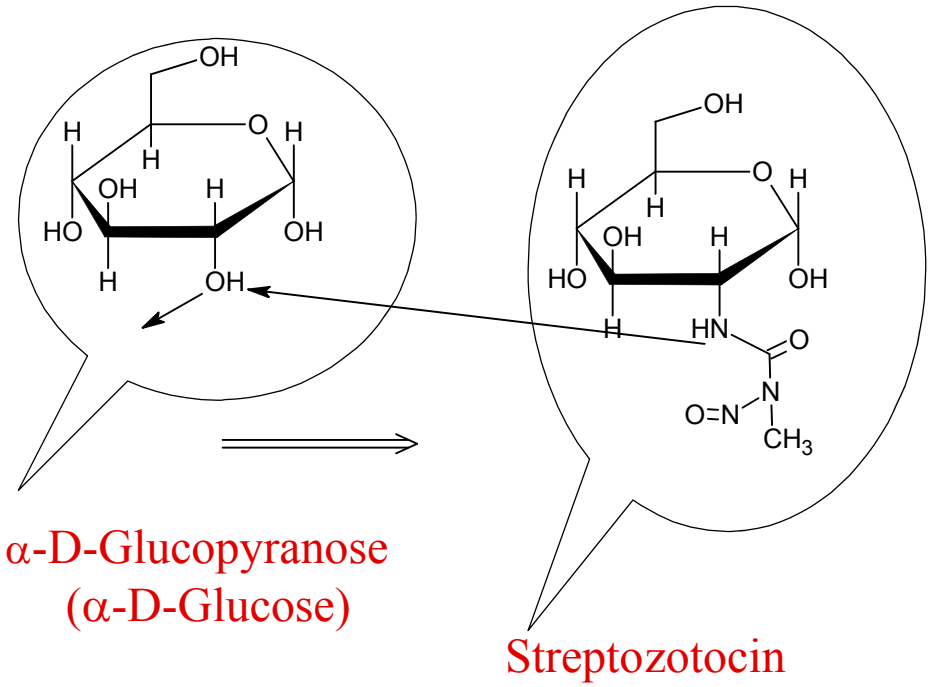
Az in vitro mérések tanúsága szerint a Cr-ionoknak önmagukban, esetleg a Mg-ionokkal együtt jelentős szerepe lehet a glükóz hasznosulási folyamat sebességének alakításában, részben az inzulinmolekula stabilitásának növelésén, részben egyéb folyamatokon keresztül. A Se-ionok valószínűleg jelentős szerepet játszhatnak az inzulinmolekula élettartamának egyes időszakaiban. (Keszthelyi és mtsai, 2003)

## 4.2.ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK

A króm-kezelés általános homeosztatikus, táplálkozási és anyagcsere hatásainak további elemzésére magatartási-biokémiai/neurokémiai kísérleteket folytattunk laboratóriumi patkányokkal. Vizsgáltuk, hogy a központi szabályozásban alapvető jelentőségű VMH területére juttatott agyi streptozotocin mikroinjekció segítségével létrehozható kóros homeosztatikus állapot megelőzhető-e króm(III)-vegyülettel történő előkezeléssel. Alapvető szakmai célunk annak igazolása (vagy kizárása) volt, hogy a központi idegrendszer működésében és szabályozási mechanizmusaiban a glükózanyagcserét illetően van-e szerepe a króm(III)-ionoknak.

### 4.2.1. A STREPTOZOTOCIN (STZ)

A streptozotocin, amely a Streptomyces acromogens nevű gombafaj termékeként vált ismertté, egy széles spektrumú, antibiotikus hatású anyag, amely szisztémásan adva szelektíven elpusztítja a pankreász béta-sejtjeit, így rendkívül hatásos diabetogén ágens. Kémiailag egy D-glükózhoz C2-es pozícióban kapcsolt 1-metil-1-nitrozureából áll (19. ábra). Színtelen, szilárd halmazállapotú anyag, molekulatömege 265, Vízben jól oldódik. Szobahőmérsékleten az anyag nem stabil, tárolása 20°C alatt kell, hogy történjen. Oldatban pH 4-en és alacsony hőmérsékleten valósul meg optimális stabilitása. Az STZ béta-sejt toxikus tulajdonságát kihasználva, a klinikumban eredetileg inzulintermelő tumorok kezelésére használják. Citotoxikus hatásáért az 1-metil-1-nitrozourea csoport felelős (Rerup, 1970).




19. Ábra. A streptozotocin és a D-glükóz molekula kémiai szerkezete

### 4.2.2. AZ STZ HATÁSA A PERIFÉRIÁN

Az STZ a GLUT2 glükóz-transzporteren keresztül jut specifikusan a pankreász béta sejtjeibe. Toxicitásának fő okaként feltételezik, hogy a szigetsejtekben gyors NAD-csökkenést okoz. A NAD alapvető jelentőségű a glikolízis és a mitokondriális oxidatív foszforiláció során zajló, ATP termeléséhez szükséges redox-folyamatokban. Az STZ a DNS metilációját okozza, ami lánctörésekhez vezet, és ezzel aktiválja a PARP-t (poli(ADP-ribóz)polimeráz). Ez az enzim poli-(ADP-ribóz) termelését váltja ki, ami NAD felhasználásával történik, ez pedig az ATP szintézis csökkenéséhez vezet. Az STZ ezen hatásmódját PARP-deficiens egereken történt vizsgálatok támasztották alá. (Kullin és mtsai, 2000).

Morfológiailag az STZ élő állatban kiterjedt károsodásokat okoz. A STZ hatására komplex oxidatív stressz-állapot jön létre, amely szabadgyök-képződést, és NO-termelődést indít be. Ez DNS károsodást okoz, és a sejt energia-egyensúlyának végzetes felborulásához vezet.

### 4.2.3. CENTRÁLIS STREPTOZOTOCIN-DIABETES MODELL

Karádi és munkatársai (1998) korábbi vizsgálataik során megállapították, hogy az STZ közvetlenül a VMH-ba juttatva, a 2-típusú diabeteshez hasonlító állapot létrejöttét eredményezi.

A pankreász béta sejtek és a GR sejtek több közös, biokémiai és elektrofiziológiai tulajdonsága alapján feltételezték, hogy az STZ a KIR-i neuronokra is toxikus. VMH-ba adott STZ mikroinjekció mind akutan, mind krónikusan a glükóztolerancia kóros változását okozta („impaired glucose tolerance"), ami specifikusan a VMH GR ek pusztulásejtjein miatt jöhetett létre. (Karádi és mtsai, 1988, 1992). Az agyi STZ mikroinjekció adása utáni negyedik héten végzett OGTT alapján a változás irreverzibilisnek tűnt, kompenzációs funkciójavulás nem jelentkezett. Szövettani vizsgálatokkal intracerebrális sejtkárosodás volt kimutatható, így valószínű, hogy ez volt a szabályozási zavar oka. Egyes kutatások szerint a VMH stimulációja inzulintól független glükózfelvételi utakat nyithat meg egyes perifériás szövettípusokban, pl. a vázizomban, szívizomban, barna zsírszövetben, ami részben magyarázatul szolgálhat a VMH működészavarok DM-szerű állapotot okozó hatására (Karádi és mtsai 1988, 1992).

### 4.2.4. A TÁPLÁLKOZÁS ÉS AZ ANYAGCSERE KÖZPONTI SZABÁLYOZÁSA

#### 4.2.4.1. A szénhidrát és lipid anyagcsere

A szénhidrát-anyagcsere központi kérdése a vércukor-szint fenntartása és annak szabályozása. Az európai és az észak-amerikai lakosság napi szénhidrát-bevitele kb. 300g. Ez a napi energiaigénynek majdnem a felét teszi ki. A szénhidrátok nagy része poliszaharid (főleg keményítő) formájában kerül a tápcsatornába. A szénhidrátok közül csak a monoszaharidok képesek a tápcsatornából felszívódni, ezért már a szájüregben megkezdődik a poliszacharidok lebontása. A keményítőt az α-amiláz bontja, amely a nyálban és a pankreásznedvben van jelen. Az amiláz a keményítőmolekula 1-4 glikozidos kötéseit bontja, de nem hasítja az 1-6 kötéseket, amelyek a lánc-elágazásoknál találhatóak, ill. az ezek melletti 1-4 kötéseket sem. Az amiláz hatására tehát maltóz, maltotrióz és α-dextrinek keletkeznek, amelyeket az enterociták kefeszegélyében található enzimek (a maltáz, izomaltáz és az α-dextrináz) bontanak tovább monoszacharidokká.

A szervezetnek naponta min. 160-180 g glükózra van szüksége. A bélrendszerből felszívódott glükóz kb. 55-60%-a alakul át glikogénné. Éhezés esetén a vércukor-szint fenntartását a máj a glikogenolízisből, ill. a glükoneogenezisből biztosítja. Előbbi a máj raktározott glikogénjének bontását jelenti, utóbbi a cukor újdonképződése zsírok, fehérjék, aminosavak átalakítása révén. Tartós éhezéskor 100%-ban a glükoneogenezis tartja fenn a szükséges vércukor-szintet. A glükoneogenezis meglehetősen energiaigényes folyamat, ami a máj működési energiájának 20%-át teszi ki.

A máj glükózfelvétele függ a portális véna glükóz-koncentrációjától. A szabályozás mai tudásunk szerint a hipotalamusz szintjén valósul meg (ld. később), a máj vagalis és szplanknikus beidegzésén keresztül. A táplálkozásban a glükóz mellett a fruktóz és a galaktóz is fontos szerepet játszik. A fruktóz főként a szukróz alkotójaként kerül bevitelre, a napi bevitt szénhidrát mennyiség kb. 15-20%-át teszi ki. A fruktóz erősen stimulálja a máj zsírsavtermelését, főleg a VLDL szint emelkedik jelentősebb fruktóz-bevitelt követően.

Az inzulin fokozza a glükózfelvételt számos szövettípusban, ill. ezzel egy időben gátolja a glükóz termelését és a lipolízist. A glükóz által stimulált inzulin kibocsájtás egy kezdeti, átmeneti fázisból (AIR), és egy ezt követő, elnyújtottabb második szakaszból áll. Az inzulinszekréció ezen bifázisos mintázata a szekréciós granulumok két, funkcionálisan eltérő alcsoportjának exocitózisával van összefüggésben. Az újabb kutatások azt mutatják, hogy az inzulinra adott akut inzulin szekrétoros válasz (AIR) alacsonyabb a kóros glükóz-toleranciát mutató egyénekben, ill. azokban, akik a magas rizikójú diabeteses csoportba tartoznak. Az alacsony AIR számos esetben alkalmas lehet diabetes kialakulásának megjósolására. A korai inzulin szekréció fontos az étkezés utáni endogén glükóz-termelés elnyomásához. Így, ha elveszik az AIR, posztprandiális hiperglikémia alakul ki. Ez minden esetben létrejön, de egészségeseknél nem kóros növekedés tapasztalható. A diabetes kialakulásával párhuzamosan klinikailag manifeszt hiperglikémiává fejlődik.

A plazma lipidek vízben oldhatatlanok, ezért apoproteinekhez kapcsolt formában, lipoproteinekként vannak jelen. A lipoproteineket sűrűségük alapján soroljuk a VLDL, LDL, HDL csoportba, ill. a kilomikronok közé, ez utóbbiak a legnagyobb, étkezés után megjelenő részecskék a plazmában

A plazmában található lipidek: a koleszterin, a koleszterinészterek, a trigliceridek frakciója és a foszfolipidek. A zsírsavakat szénláncuk hosszúsága, ill. a kettős kötések száma alapján csoportosítjuk. Esszenciálisnak nevezzük azokat a zsírsavakat, melyeket az emberi szervezet nem tud szintetizálni, így ezek csak bizonyos tápanyagok fogyasztásával vihetők be (pl. linolénsav). A koleszterin részben a sejtmembránok alkotórésze, részben az epesavak és szteroid hormonok szintézisének alapanyaga. A foszfolipidek szintén fontos sejtmemrán alkotók. A triglicerid a plazmában főleg a kilomikronokban és a VLDL-ben van jelen. A zsírszövet a szervezet fő energiaraktára. Az elhízást gyakran kíséri hipertrigliceridémia. Az elhízáshoz kapcsolódó hipertrigliceridémia feltételezett okai multifaktoriálisak. Úgy gondolják, hogy a hiperinzulinémia és az inzulinrezisztencia kulcsszerepet játszik a máj VLDL-termelésének fokozódásában. Inzulin-injekciókkal kiváltott krónikus hiperinzulinémia

fokozta a TG szekréciós rátát. Más szerzők szerint ebben inkább az inzulin-rezisztencia a fő tényező. Vizsgálataik szerint az inzulin ugyan önmagában csökkenti a TG-termelődést, de az inzulin-hatás elégtelensége a szekréció-gátlást csökkenti.

A leptin nevű, 16kD nagyságú polipeptid hormont 1994-ben fedezték fel. Kizárólag a zsírsejtek termelik, szerepe a táplálékfelvétel és az energiaháztartás szabályozásában van. Elválasztásának szabályozói az éhezést követő inzulin- és glükokortikoid-szint emelkedés, a táplálékfelvétel és a zsírszöveti trigliceridszint nagysága. A keringésben mérhető leptin koncentráció számos vizsgálat tanúsága szerint szorosan korrelál a test abszolút vagy relatív zsírtartalmával. A leptin a szénhidrát-anyagcserét számos ponton befolyásolja. A hasnyálmirigy szigetsejtjeiben az ATP-érzékeny káliumcsatornák aktivitása útján csökkenti mind a bazális, mind a mind a glukóz stimulálta inzulinelválasztást. Az izomszövetben elősegíti a glukózfelvételt, a glikogenezist , a GLUT-4 transzporter expresszióját. A májban a laktátfelvétel fokozása révén stimulálja a glukoneogenezist, valamint elősegíti a zsírsavak béta-oxidációját. Fokozza a glikogenolízist is. A leptin szabályozó szerepet tölt be az adaptív thermogenezis szabályozásában is. Részben közvetlenül, részben centrális átkapcsolással, a sympathoadrenalis rendszeren keresztül. A keringő leptinmennyiségek mintegy 1/3-a szabad, 2/3 része pedig szolubilis receptorokhoz kötött. A 2-es típusú diabetesben a szolubilis receptor szint emelkedésével csökken a szabad leptinmennyiség, ami a leptinrezisztencia egy további tényezője.

Elhízásban a legtöbb vizsgálat emelkedett szérumleptinszintet talált, pozitív korreláció mutatkozott a test zsírtartalma, a BMI és a keringő leptin koncentráció között. Sem elhízásben, sem 2-es típusú diabetesben megbetegedettekben nem találtak eltérést a leptin és receptorai génszerkezetében az egészségesekhez képest.

Hatására a hipotalamuszban csökken a neuropeptid Y elválasztása (a NPY erős táplálékfelvételt kiváltó anyag), ill. fokozódik a hőleadás.

Az élő szervezetek sejtjeik energiaellátását táplálékfelvétellel biztosítják. A táplálékokból az energia a magas energia-tartalmú makroerg kötések oxidációjával szabadul fel. A felszabadult energia egy része azonnal felhasználásra kerül, másik része raktározódik. Egyensúlyi állapotban a táplálékfelvétel mértékét az élőlény aktuális energia-szükséglete szabja meg, ami viszont nemcsak a pillanatnyi igényt kell, hogy biztosítsa, hanem a raktárak feltöltését is kell, hogy szolgálja. Egyensúlyi fiziológiás esetben a bevitt energia egyenlő a felhasznált energia mennyiségével. Hosszú távon csak így maradhat az élőlény testtömege állandó. A táplálkozási szokások kialakulása külső és belső tényezők függvénye. Az, hogy a táplálkozási magatartás bekövetkezik-e, a külső-belső tényezők aktuális integrációjának

eredményétől függ. Bizonyos külső ingerek jóllakott állatban is táplálkozási magatartást válthatnak ki (pl. a csoportban élő fajoknál a fajtárs jelenléte a táplálékfelvételt fokozhatja), más ingerek pedig az éhes állat táplálékfelvételét is megakadályozhatják (pl. bizonyos szag- vagy szín-ingerek jelenléte).

Az éhség olyan komplex motivációs állapot, ami a táplálkozási magatartás kiváltására szolgál. Az éhség már akkor jelentkezik, amikor a raktárak még képesek fedezni az élőlény energia-szükségletét. A táplálékfelvétellel kapcsolatos magatartásformák a következők:

- 1. a táplálék felkutatása,
- 2. a táplálék elfogyasztása,
- 3. a táplálékfelvétel befejezése.

Ez utóbbihoz a jóllakottság érzése vezet. A jóllakottság érzése a gyomor-, ill. a bélfal feszülése, GI és neurokémiai anyagok felszabadulása (pl. bombezin, CCK) hatására alakul ki. Ez az állapot még azelőtt kialakul, hogy a raktárak feltöltődnének, amiben központi idegrendszeri folyamatoknak van nagy szerepe. A felszívódott tápanyagok is szerepet játszanak a jóllakottság kialakulásában. Például a triptofán 5-hidroxi-triptaminná alakul, amely a KIR-ben gátolja a táplálékfelvételt. Az inzulin pedig gátolja a neuropeptid Y gén transzkripcióját, gátolva a táplálékfelvételt.

A táplálkozási magatartást befolyásoló intrinzik folyamatok egymás mellett és egymással együttműködve befolyásolják a táplálék felvételét. Ezen folyamatok központi idegrendszeri szabályozását tekintem át röviden a következő fejezetben (Halmos, Jermendy, 2002).

### 4.2.4.2. A táplálkozás-szabályozásban résztvevő fontosabb agyi területek

Vonatkozó ismereteinket léziós és ingerléses kísérletek eredményei alapozták meg. A kísérletek eredményei alapján logikusnak tűnt az egyes funkciókhoz meghatározott agyi területeket rendelni. Az LHA elektromos ingerlésével jóllakott patkányban is evést tudtak kiváltani, míg a terület léziójával átmeneti afágiát, majd tartós hipofágiát idéztek elő (Anand, Brobeck, 1951). A VMH elektromos ingerlése a táplálékfelvétel megszűnését okozta még éhes állatban is (Hoebel és Teitelbaum, 1962), míg a VMH léziói hiperfágiát és obezitást hoztak létre. Így alakultak ki az ún. „központ-teóriák”, azaz: LHA (laterális hypothalamus area)=éhségközpont, VMH (ventromediális hypothalamus)= jóllakottság központ elképzelés. A központ-teóriákhoz hasonlóan, egymással ellentétesen ható agyi struktúrák meglétén

alapulnak a pálya-elméletek is, melyek a 60-as évektől kezdve terjedtek el: pl. nigrostriatális rendszer és mezolimbikus dopaminergiás rendszer=éhségpálya, ventrális noradrenergiás pálya=jóllakottságpálya. Az egysejt-elvezetéses módszerekkel végzett vizsgálatok ezeket az elméleteket úgy módosították, hogy jelenleg a központ- és pályateóriák helyett a táplálkozás-szabályozó rendszert egy olyan hierarchikusan egymásra épülő neuronhálózatnak tekintjük, amely a külső-belső hatások pillanatnyi változásaira képes adaptív válaszokat adni.

A hipotalamusz mind anatómiailag, mind funkcionálisan központi helyet foglal el a hormonális, vegetatív és metabolikus szabályozásban. Kommunikál szinte az egész idegrendszerrel, kontrollálja a hipofizeális szekréciót, ezzel pedig befolyásolja az endokrin- és exokrin rendszer nagy részét is. Egyes területei már korán szóba kerültek a táplálkozás-szabályozással kapcsolatban, mint pl. A hipotalamikus kettős centrum teória, amely a LHA-VMH-t tekinti a táplálkozási viselkedés központjának (Egyed és mtsai, 2000).

Későbbi kutatások más hipotalamikus régiókat is kapcsolatba hoztak a táplálkozás-szabályozással, így a szuprakiazmatikus magot, a preoptikus magot, a nukleusz arkuátuszt és a paraventrikuláris magot is. A preoptikus magban hőérzékeny neuronok is találhatók, melyek izgalma serkenti a VMH működését. A szuprakiazmatikus magnak a diurnális ritmus generálásában van szerepe. A nucleusz arkuátusz neuronjain vannak azok a receptorok, amelyek a zsírraktárak teltségét jelző leptint érzékelik (Karádi és mtsai, 1995).

A táplálkozás szabályozásában a hipotalamuszon kívüli területek is részt vesznek. A perifériáról a KIR-be érkező információ integrációjának első szintjét képezik az agytörzsi magok. Ezt az is bizonyítja, hogy decerebrált állatok is képesek a jóllakottsági szignálokra válaszolni. Itt említhetjük meg a nukleusz traktusz szolitarii-t, amelyen a GI rendszerből a n. vaguson keresztül érkező ingerületek átkapcsolódnak. A nucleusz dorsalis a vagus egy másik magja, melynek léziója elhízáshoz vezet (Egyed és mtsai, 2000).

A nukleusz parabrahiális léziója szintén elhízást okoz, amiben szerepe lehet az itt található VMH-ban izgalmat kiváltó neuronoknak is.

### 4.2.4.3. Az agyi glükóz-monitorozó rendszer

A táplálkozás szabályozásához szükség van olyan szignálokra, amelyek tájékoztatják a KIR-t a szervezet energia-ellátottságáról. Ezeket a jeleket az KIR-ben specifikus receptorok érzékelik, amelyek segítségével az egyes anyagcsere-folyamatok állandó központi monitorozása lehetséges. A glükóz, mivel alapvető fontosságú mind az idegrendszer sejtjeinek energiaellátásában, mind a többi szövet metabolizmusában, megfelelő kémiai inger egy ilyen anyagcsere-monitorozó rendszer számára. Aranytioglükóz i.p. adásával valóban

sikerült az agyban is kimutatni glükóz-receptorokat. Ezek főleg a VMH területén voltak kimutathatók. Más úton, azaz elektrofiziológiai kísérletek során olyan sejteket találtak a KIR-ben, amelyek glükóz hatására specifikusan megváltoztatták a tüzelési frekvenciájukat. Ezek az ún. glükóz monitorozó sejtek, melyek vizsgálatát először Oomura és munkatársai kezdték meg (1969,1992). A glükózra nem érzékeny neuronokat glükóz inszenzitív sejteknek nevezzük (GIS). Viselkedésük alapján a glükóz monitorozó sejteket két csoportra lehet osztani. A glükóz-receptor neuronok (GR) glükóz hatására aktivitásukat növelik, míg a glükóz-szenzitív (GS) neuronok aktivitása glükóz hatására csökken. A fenti jellemző tulajdonságaik alapján a két csoportba tartozó sejteket meg lehet különböztetni. A LHA neuronjainak kb. 30%-a glükóz-szenzitív neuron. A GS neuronokon a glükóz hatására kialakuló gátlás úgy jön létre, hogy az ATP függő NA-pumpa aktivitása glükóz hatására nő, és ez a sejtek hiperpolarizációjához vezet. Szívglikozidokkal ez a hatás csökkenthető volt, mert ezek a szerek gátolják az ATP függő Na pumpát. A VMH-ban és az arkuátusz-magban hasonlóan mintegy 1/3-os arányban az ún. GR neuronok találhatók meg. GLUT2 mediálta, glükokináz közvetítésével kialakuló hatást jeleznek e sejtek, melyek működésében az ATP érzékeny K-csatornák szerepe is fontos. GM sejtek találhatók a hipotalamusz mellett is, főleg a NTS, area postrema, az amigdala és az OBF területén (Karádi és mtsai, 1988, 1992, 1998). Feltételezik, hogy a KIR-ben létezik egy glükóz-monitorozó sejthálózat, amelynek fontos szerepe lehet a táplálkozás szabályozásában (Karádi és mtsai 1998, Egyed és mtsai, 2000).

#### 4.2.4.4. Célkitűzések

Kísérletünk a glükóz anyagcserét két, különböző aspektusból vizsgáló kísérleti program érintkezési pontját képezi. Egyrészt kapcsolódik a GM neuronhálózat homeosztatikus regulációban betöltött szerepének további vizsgálatához, másrészt pedig a króm-pikolinát hatásainak kutatásához. Célunk volt annak tisztázása, hogy befolyásolja-e a króm-pikolinát közvetlen agyi adása a VMH-ba történő STZ mikroinjekció diabetes-szerű állapotot indukáló hatását. A következő kérdésekre kerestük a választ:

1./ Van-e különbség a kísérleti patkányok vércukor-szintjei, illetve. glükóztoleranciájuk között akutan abban az esetben, ha csak STZ-t juttatunk a VMH-ba, illetve ha króm előkezelést is alkalmazunk az STZ beadása előtt?

2./ Van-e különbség ugyanezen paraméterekben krónikusan, a mikroinjekciók beadása után 4 héttel?

3./ Az ip. inzulin injekciók nyomán fellépő táplálékfelvételben kialakul-e különbség az egyes állatcsoportok között?

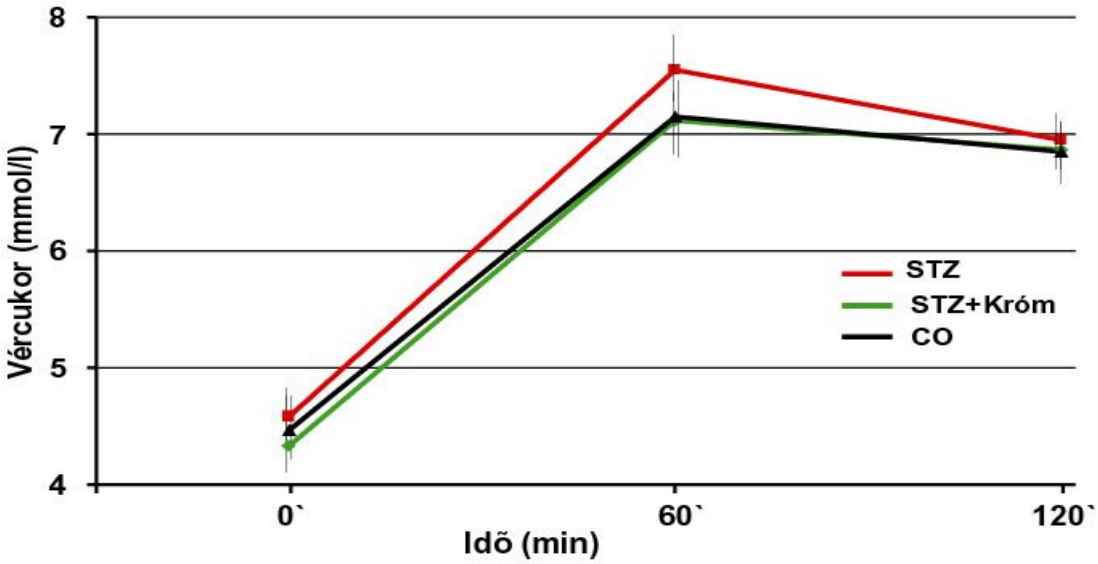
4./ Az állatok metabolikus állapotának jellemzésére alkalmas paraméterek közül a plazma inzulin-és leptin szintekben a kezelések okoznak-e eltéréseket?

### 4.2.4.4.1. Anyagok és módszerek

***Kísérleti állatok***

Kísérletünkhöz n= 40 felnőtt, hím Wistar patkányokat használtunk. Az állatokat egyedi ketrecekben helyeztük el. A víz-és táplálékfelvétel állandóan biztosított volt számukra, kivéve az OGTT vizsgálatokat megelőző 15 órás periódust. A helyiségben állandó volt a hőmérsékletet (21±2°C) és a páratartalom (60±5%). A kísérlet kezdete előtt egy alkalommal ún. kontroll OGTT vizsgálat történt (19. ábra). Ez alapján az eleve kóros glükózterhelési görbét mutató állatokat kizártuk a további vizsgálatokból.

A kísérlethez alkalmas állatok glükózterhelési görbéi a fiziológiás tartományon belül voltak. Ezután az állatokat 3, azonos testtömeg átlagú csoportra osztottuk.




20. Ábra Kontroll OGTT. A 9. táblázat adatainak ábrázolása

***Műtét***

Az operációkat ketamin (Calypsol, Richter Gedeon) anesztéziában végeztük. Az állatok fejét sztereotaxiás készülékkel rögzítettük. A koponyacsontról eltávolítottuk a bőrt, az izmot és a kötőszövetet. Ezután mikromanipulátor segítségével kimértük a fúrások helyét a

koponyán, és mikroszkópos kontroll mellett fogászati fúróval 2-3 mm átmérőjű lyukat fúrtunk a keményagyhártyáig.

Következő lépésként a csoportunk által készített vezetőkanül-párt mikromanipulátor segítségével a VMH-nak megfelelő agyterület felett a durára helyeztük. A pontos pozicionáláshoz a koordinátákat a Pellegrino-féle patkányagy-atlaszból (1979) vettük. A beadás pontosságát a beadókanül precíz hosszbeállításával biztosítottuk. Végül a beadó kanül-párt fogászati akriláttal rögzítettük a koponyacsonthoz.

## ***Agyi mikroinjekciók***

A műtét után egyhetes felépülési periódus következett. Ez alatt az állatok visszanyerték a műtét előtti súlyukat. A mikroinjekciók beadásához behelyeztük a vezetőkanülbe pontosan illeszkedő beadó kanülöket. Az anyagokat Hamilton-mikrofecskendővel, mikroinjekciós pumpa segítségével 1 perc alatt juttattuk a vezetőkanülön keresztül a VMH-ba. Az egy oldalra adott anyagmennyiség minden esetben 1 μl volt. Újabb 1 perc várakozás után, amikor a szer várhatóan már eldiffundált a beadás helyéről, a kanült kihúztuk.

Az állatok egyik csoportjának csak STZ-t, a másodiknak STZ-t és króm-pikolinátot is, a harmadik, ún. álműtött kontroll csoportnak pedig fiziológiás NaCl oldatot adtunk. A Cr-pikolinát oldat koncentrációja 2 mg/ml, pH-ja pedig 5 volt. A STZ-t jéghideg fiziológiás sóoldatban oldottuk, pH-ja 6.5, koncentrációja 10 mg/ml, 0,037 M volt. A króm-pikolinát és az STZ beadása között kb. 75 perc telt el. Az álműtött csoportnak azonos volumenű fiziológiás sóoldatot azért adtunk, hogy kiszűrjük a volumenváltozás okozta agyszöveti nyomásváltozás hatását.

## ***OGTT (orális glükóz tolerancia teszt)***

Az orális glükóz tolerancia vizsgálat (OGTT) olyan provokációs teszt, mely lehetőséget nyújt diabeteses megbetegedés felderítésére olyan esetben is, ha az éhgyomri vércukor-szint a kóros és a normális érték közti határon van, ill. olyan betegeknél, akiknek klinikai állapota (polineuropatia, retinopatia) összefügghet diagnosztizálatlan DM-szal. Az OGTT során kiderülhet a glükóz metabolizmus olyan rejtett zavara is, amely az éhgyomri glükóz koncentrációkban nem okoz eltérést. Kísérletünkben az OGTT -et a patkányok vizsgálatában bevált változatban alkalmaztuk. A kísérlet során két alkalommal történt orális glükóz terhelés. Először egy akut vizsgálat történt az agyi mikroinjekciók beadása után 15 perccel, majd egy krónikus teszt a kezelés után 4 héttel.

Az orális glükóz terhelést úgy végeztük, hogy szájon át szondát vezettünk a gyomorba, majd ezen keresztül 0.75g/ml/100 tsg mennyiségű D-glükóz oldattal terheltük meg az állatokat.

A vércukor koncentrációkat Glucotrend márkájú automatikus, digitális, kézi glükométerrel végeztük. Meghatároztuk az éhgyomri vércukor-szintet a cukor beadása előtt (0'), majd a terhelés után, a 9., 18., 30., 60., és 120. percben. Az OGTT vizsgálatokat minden állat-csoportban elvégeztük.

#### 4.2.4.4.2. Intraperitoneálisan adott inzulin kiváltotta táplálékfelvétel

A vizsgálat 15 órás éheztetés után történt. Az állatoknak intraperitoneálisan 6 NE/tskg inzulint adtunk, majd kimért mennyiségű tápot az etetőjükbe helyezve, mértük a patkányok táplálékfelvételét az injekció utáni 2., 4., és 24. órában. Egyidejűleg vércukorszint méréseket is végeztünk.

#### 4.2.4.4.3. További mérések

Az állatok metabolikus állapotának további jellemzésére plazma inzulin és leptinszint méréseket végeztünk. A vizsgálathoz szükséges plazma kinyeréséhez az állatokat kivéreztettük, vérüket centrifugáltuk. A meghatározások radioimmunassay segítségével történtek (Linco Co., USA).

***Szövettan***

A szövettani vizsgálatok célja annak eldöntése volt, hogy az intracerebrális mikroinjekciók a megfelelő helyre kerültek-e. Az állatokat a kísérlet befejezését követő 24 óra múlva lettek elvéreztetve. Az állatokat transzkardiálisan fiziológiás sóval, majd 10%-os formalinnal perfundáltuk. A koponyából eltávolított, sorozatmetszett és festett agyszövet minták fénymikroszkópos vizsgálatával ellenőriztük a kanülnyomok helyét.

## ***Statisztikai vizsgálatok***

A kísérleti eredmények értékelése t-próbával és többszempontos variancia-analízissel, a Microsoft Office 97 Excel táblázatkezelő program segítségével történt.

9. táblázat

| | 2h | 4h | 24h |
|---|---|---|---|
| **STZ+Cr** | 5 | 5 | 23 |
| | 6 | 8 | 31 |
| | 10 | 11 | 33 |
| | 8 | 8 | 31 |
| | 6 | 7 | 25 |
| | 9 | 9 | 33 |
| **STZ** | 4 | 9 | 32 |
| | 9 | 12 | 41 |
| | 5 | 9 | 37 |
| | 7 | 13 | 42 |
| | 5 | 10 | 43 |
| | 8 | 13 | 34 |
| **CO** | 3 | 7 | 30 |
| | 5 | 9 | 32 |
| | 5 | 6,5 | 33 |
| | 7 | 7,5 | 32 |
| | 4 | 10 | 29 |
| | 6 | 5,5 | 32 |

| | 2h | 4h | 24h | Total |
|---|---|---|---|---|
| *STZ+Cr* | | | | |
| Esetszám | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Összesen | 44 | 48 | 176 | 268 |
| Átlag | 7,333333 | 8 | 29,33333 | 14,88889 |
| Varancia | 3,866667 | 4 | 18,26667 | 118,2222 |
| *STZ* | | | | |
| Esetszám | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Összesen | 38 | 66 | 229 | 333 |
| Átlag | 6,333333 | 11 | 38,16667 | 18,5 |
| Variancia | 3,866667 | 3,6 | 20,56667 | 216,8529 |
| *CO* | | | | |
| Esetszám | 6 | 6 | 6 | 18 |
| Összesen | 30 | 45,5 | 188 | 263,5 |
| Átlag | 5 | 7,583333 | 31,33333 | 14,63889 |
| Variancia | 2 | 2,741667 | 2,266667 | 150,7884 |
| *Total* | | | | |
| Esteszám | 18 | 18 | 18 | |
| Összesen | 112 | 159,5 | 593 | |
| Átlag | 6,222222 | 8,861111 | 32,94444 | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Variancia | 3,830065 | 5,494281 | 27,23203 |

ANOVA

| *a variatiok forrása* | *SS* | *df* | *MS* | *F* | *P-value* | *F crit* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Minta | 168,0648 | 2 | 84,03241 | 12,36276 | 5,26E-05 | 3,20432 |
| Oszlopok | 7806,287 | 2 | 3903,144 | 574,2263 | 9,31E-33 | 3,20432 |
| Interakció | 147,5185 | 4 | 36,87963 | 5,425691 | 0,001186 | 2,578737 |
| Csoporton belül | 305,875 | 45 | 6,797222 | | | |
| | | | | | | |
| Összesen | 8427,745 | 53 | | | | |

t-Test: Páros T próba az átlagokra **2h**

| | *STZ+Cr 2h* | *CO 2h* |
|---|---|---|
| Átlag | 7,333333333 | 5 |
| Variancia | 3,866666667 | 2 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | 0,647275457 | |
| | | |
| Az átlagok közti különbség | 0 | |
| Df (szadságfok) | 5 | |
| t érték | 3,796283012 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,006338301 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalas | 0,012676602 | |
| t kritikus kétoldalasl | 2,570577635 | |

t-Test: Páros T próba az átlagokra **2h**

| | *STZ 2h* | *CO 2h* |
|---|---|---|
| Átlag | 6,333333333 | 5 |
| Variancia | 3,866666667 | 2 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | 0,647275457 | |
| Az átlagok közti különbség | 0 | |
| | | |
| Df (szabadságfok) | 5 | |
| t érték | 2,169304578 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,041107592 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalas | 0,082215183 | |
| t kritikus kétoldalas | 2,570577635 | |

t-Test: Párosított T próba az átlagokra **24 h**

| | *STZ+Cr 24h* | *STZ 24h* |
|---|---|---|
| Átlag | 29,33333333 | 38,16667 |
| Variancia | 18,26666667 | 20,56667 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | 0,099745918 | |
| Az átlagok közti különbség | 0 | |
| Df (szabadságfok) | 5 | |
| t érték | -3,659090304 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,007304391 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalasl | 0,014608782 | |
| t kritikus kétoldalasl | 2,570577635 | |

t-Test: Párosított T próba az átlagokra **4h**

| | *STZ+Cr 4h* | *STZ 4h* |
|---|---|---|
| Átlag | 8 | 11 |
| Variancia | 4 | 3,6 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | 0,158113883 | |
| Az átléagok közti különbség | 0 | |
| Df (szadságfok) | 5 | |
| t érték | -2,90473751 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,016802418 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalas | 0,033604837 | |
| t kritikus kétoldalas | 2,570577635 | |

t-Test: Párosított T próba az átlagokra **4h**

| | *STZ 4h* | *CO 4h* |
|---|---|---|
| Átlag | 11 | 7,583333 |
| Variancia | 3,6 | 2,741667 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | -0,127321403 | |
| Az átlagok közti különbség | 0 | |
| Df (szabadságfok) | 5 | |
| t érték | 3,13168771 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,012954026 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalas | 0,025908051 | |
| t kritikus kétoldalas | 2,570577635 | |

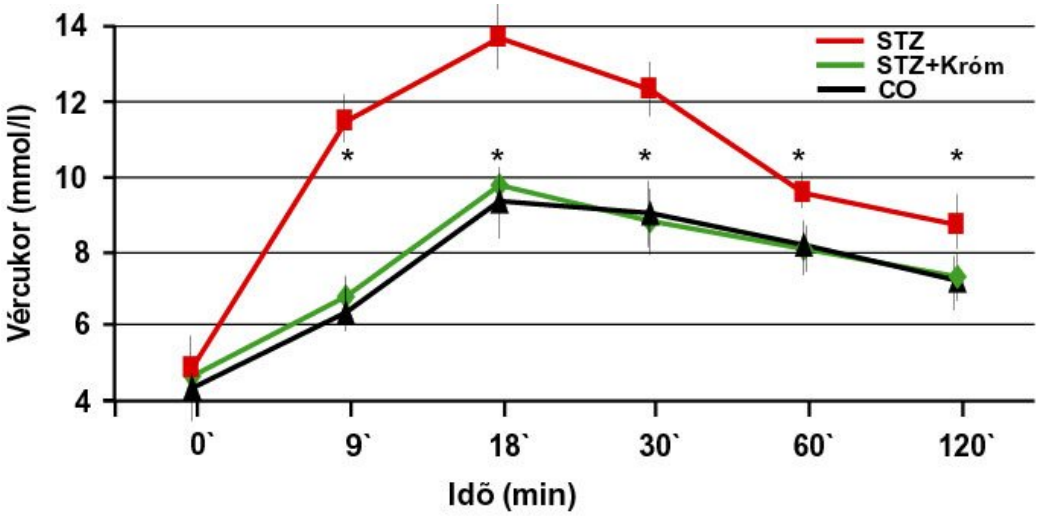
t-Test: Párosított T próba az átlagokra **24 h**

| | *STZ 24h* | *CO 24h* |
|---|---|---|

| | | |
|---|---|---|
| Átlag | 38,16666667 | 31,33333 |
| Variancia | 20,56666667 | 2,266667 |
| Megfigyelések száma | 6 | 6 |
| Pearson korreláció | -0,097641166 | |
| Az átlagok közti különbség | 0 | |
| Df (szabadságfok) | 5 | |
| t érték | 3,404864674 | |
| P(T<=t) egyoldalas | 0,009574844 | |
| t kritikus egyoldalas | 2,015049176 | |
| P(T<=t) kétoldalas | 0,019149688 | |
| t kritikus két oldalas | 2,570577635 | |

## 4.2.4.4.4. EREDMÉNYEK

A kezelések után az akutan elvégzett OGTT során szignifikáns különbséget észleltünk a VMH-jukba STZ-t kapott csoport, és. az STZ beadása előtt krómmal előkezelt csoport között. Az STZ mikroinjekciós csoportban tartósan, patológiásan magas vércukor-értékek alakultak ki.

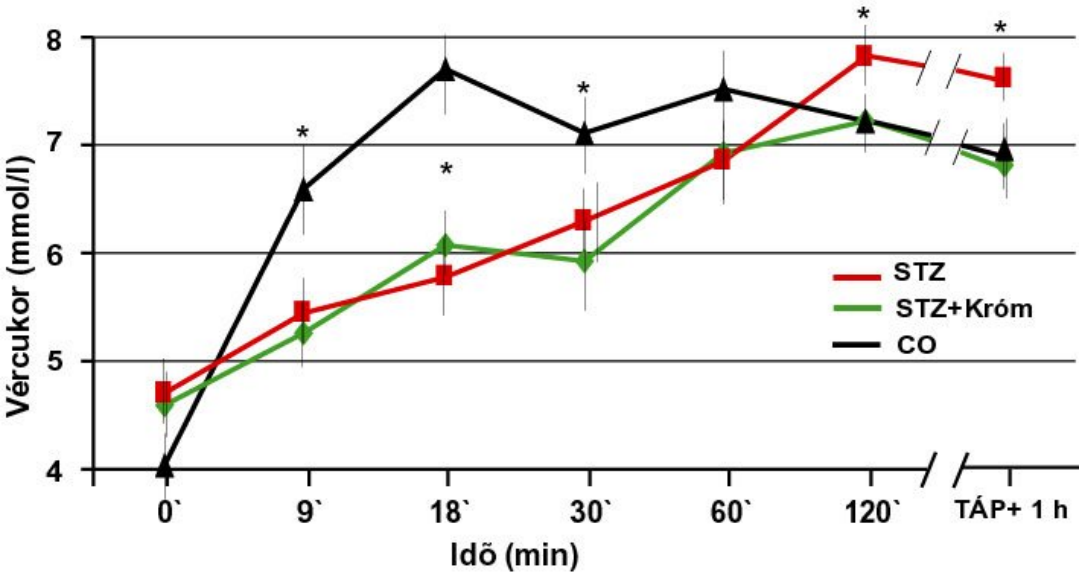



*21*. Ábra Akut OGTT (* = szignifikáns különbség) a három különböző vizsgált csoportban. STZ-*vel kezelt állatok száma, n=6, STZ+Króm, n=6, kontroll csoport, n=6. P<0,05

Ezzel szemben a krómmal kezelt, és az álműtött csoport között nem találtam szakmailag jelentős eltérést, mindkét csoportban az észlelt értékek közelítették a normál értékek tartományát (20. ábra). A króm előkezelés tehát akutan védelmet nyújtott az STZ hatásával szemben.

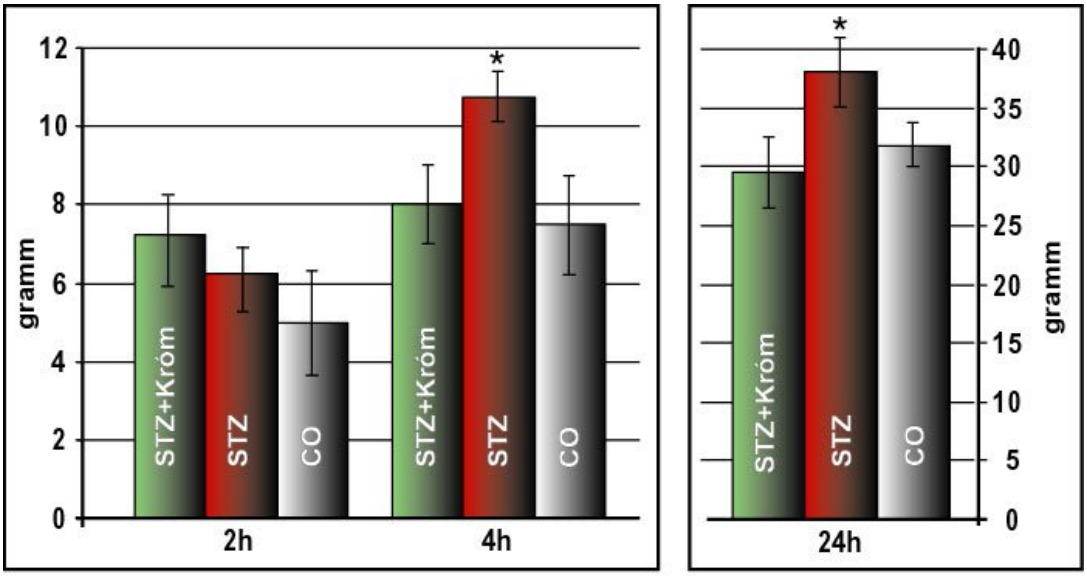
A krónikus OGTT során a csak STZ-t kapott állatok vércukorszint - idő görbéi a várakozásainknak megfelelően kóros értékeket mutattak. Korábbi kísérleteinkhez hasonlóan

az STZ mikroinjekciós csoportban a vércukorterhelési görbe elhúzódó lefutása volt megfigyelhető. A legmagasabb vércukor-érték a 120. percben, ill. az azt követő tápfelvétel után egy órával alakult ki. A krómmal előkezelt csoportban a görbe lefutása nem volt teljesen fiziológiás, de a mért vércukorértékek a csak STZ-t kapott állatokhoz képest alacsonyabbak voltak, és a 120. percre, illetve a tápfelvételt követően is a kontroll tartományba tértek vissza (21. ábra).



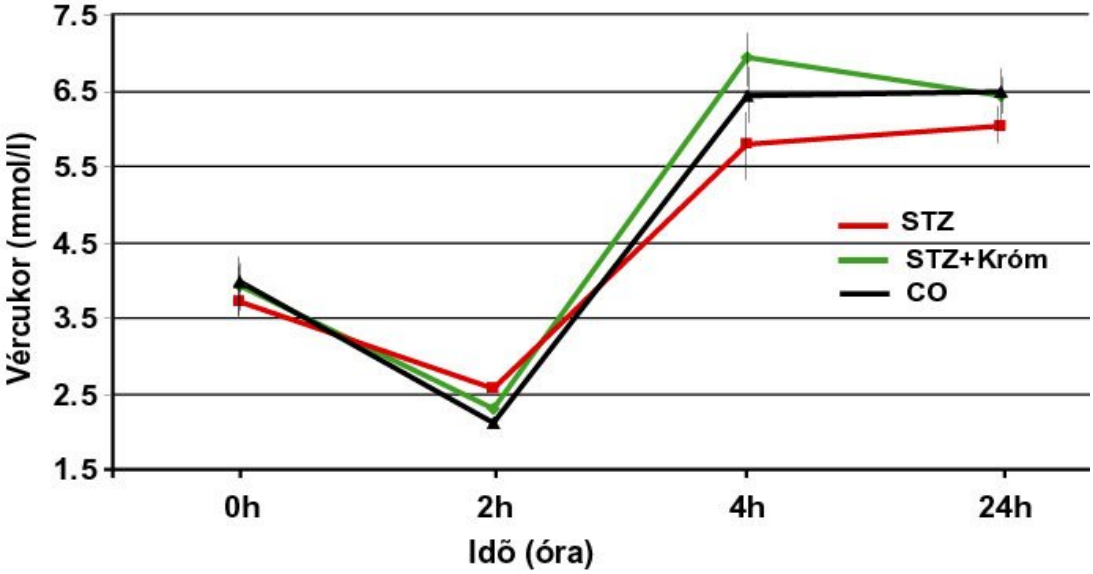

21. Ábra Krónikus OGTT (* = szignifikáns eltérés)

A centrálisan alkalmazott STZ az ip. adott inzulin kiváltotta táplálékfelvétel zavarát is előidézte. Míg az első 2 órában az egyes csoportok között lényeges különbség nem alakult ki, addig 4 óra elteltével csak az STZ-t kapott állatok ettek szignifikánsan többet. A krómmal előkezelt és a kontrollcsoport között nem volt szignifikáns különbség. 24 óra elteltével azt tapasztaltuk, hogy az eltérések nem csökkentek, a csak STZ-t kapott állatok ették továbbra is szignifikánsan többet. Annak eldöntésére, hogy a tápfelvételben mutatkozó eltéréseket (23. ábra) nem a vércukorszint-beli különbségek váltották-e ki, a kísérlet tápfelvétel mérési szakaszaiban vércukorszint meghatározásokat is végeztünk.



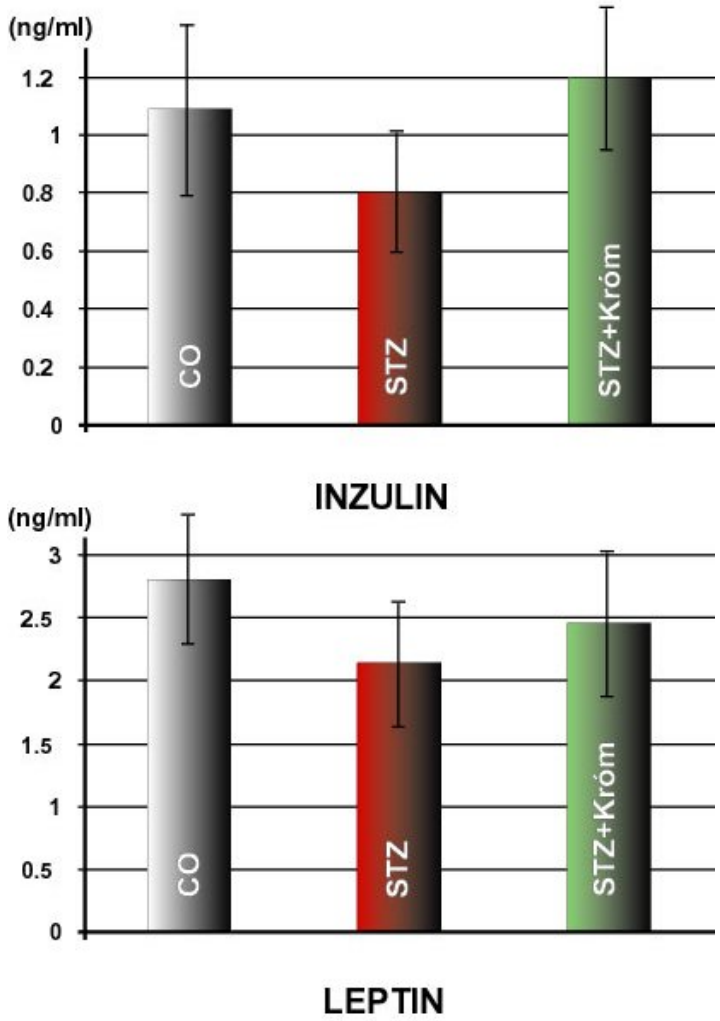

*23*. Ábra. Intraperitoneális inzulin dózis kiváltotta tápfelvétel

A vércukorszint mérések eredményeit a 24. ábra szemlélteti. Az ábrán jól látható, hogy a vércukor szintek a három kísérleti csoportban végig együtt haladtak a vizsgálat során.




24. Ábra. A tápfelvétel mérésekkel párhuzamosan végzett vércukormérések. A vércukorszint mérések eredményeit a 24. ábra szemlélteti. Az ábrán jól látható, hogy a vércukor szintek a három kísérleti csoportban végig együtt haladtak a vizsgálat során.

A patkányok metabolikus állapotának jellemzésére végzett inzulin és leptin szint mérések alapján, a három állatcsoport nem különbözött szignifikánsan egymástól (25.ábra).




*25*. Ábra. Inzulin és leptin plazmaszintek a három csoportban

## 4.2.4.4.5. MEGBESZÉLÉS

Karádi és mtsai korábbi eredményeinek megfelelően, a VMH STZ mikroinjekciózása hatására, mind akutan, mind krónikusan patológiásan magas vércukor-értékek alakultak ki az orális glükóz-tolerancia tesztek során.

A centrálisan alkalmazott STZ az i.p. inzulin kiváltotta tápfelvétel növekedését is előidézte. Abban a csoportban, ahol króm előkezelést alkalmaztunk, ezek a kóros elváltozások nem voltak megfigyelhetők.

Szignifikáns eltérést az inzulin és leptin szintek tekintetében egyik csoport esetén sem sikerült megfigyelni.

Kísérletünkben a króm előkezelés megakadályozta a streptozotocin kezeléssel kiváltható diabetes-szerű tünetek kifejlődését. Karádi és mtsai korábbi kísérleteinek tanúsága szerint a VMH-ba adott STZ elsősorban az itt található ún. glükóz-monitorozó idegsejteket

pusztítja el, valószínűsíthetjük, hogy az agy króm-szintjének lokális változásai hatással lehetnek e glükóz-receptor neuronok működésére.

Karádi és mtsai (1999, 2000) korábbi kísérletei során tehát fény derült arra, hogy a VMH-ba juttatott STZ mikroinjekció a kezelt állatokban adaptációs zavart okoz, nagyobb adag glükóz fogyasztásakor. A tesztek során az emberi diabetes mellitusban látotthoz hasonlóan kóros glükóztolerancia alakult ki. Az eredmény megegyezik más, VMH léziós irodalmi adatokkal, ahol elektromos, vagy kémiai roncsolás után hiperglikémiát tapasztaltak (Oomura 1980). Joggal feltételezhető, hogy a glükóz-tolerancia változásait a VMH GR sejtjeinek pusztulása okozza, mivel a pankreászban, ahol az STZ béta sejteket károsító hatása esetleg hasonló eltérést okozhatott volna, a sejtpusztulás patomorfológiai jeleit nem tapasztaltuk.

Elemezve az előbbi beavatkozás hosszútávú ok-okozati összefüggéseit, a következők várhatók:

1. A plazma inzulin jelentősen csökken →1. tipusú diabetes mellitus
2. A plazma inzulin szint jelentősen nő → hiperinzulinémia,
   inzulin-rezisztencia,
   diabetes mellitus,
   metabolikus szindróma.

Továbbá, a plazma leptin szint növekedése esetén az össz-zsírraktárak növekedése is felmerül. Suga és mtsai VMH léziós kísérletükben 2 héttel a műtét után hatszoros emelkedést találtak a plazma leptin szintben, és ez az érték 14 hét múltán is tovább emelkedett.

Annak ismeretében, hogy az életkor előrehaladtával szinte az összes szövet krómtartalma csökken, így az agyé is, az alábbi következtetések vonhatók le:

- elképzelhető, hogy a króm szintjének lokális változásai a KIR-ben befolyásolják a glükóz monitorozó idegsejtek működését,
- a króm lehetséges központi idegrendszeri szerepe mögött álló mechanizmusok nem teljesen ismertek, ezek feltárása további vizsgálatokat igényel,
- az abszolút vagy relatív króm-hiány szerepet játszhat a diabetes patológiájában. Felvetődik annak lehetősége is, hogy a KIR krómtartalmának a kor növekedésével kapcsolatos csökkenése összefügghet a szénhidrát anyagcsere központi szabályozásában kialakuló zavarokkal,
- feltételezhető, hogy számos 2. tipusú diabetes mellitusban szenvedő betegnél a krómhiány szerepet játszik a betegség kialakulásában.

A kérdéskör további tanulmányozása fontos eredményeket hozhat a diabetes esetleges megelőzésével, ill. kezelésével kapcsolatban, mivel feltételezhető, hogy számos 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegnél a króm hiánya a központi idegrendszerben esetleg szerepet játszik a betegség kialakulásában (Keszthelyi és mtsai, 2003).

## 4.3. A KRÓM ADAGOLÁS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA 2-ES TÍPUSÚ CUKORBETEGSÉGBEN SZENVEDŐ EGYÉNEKBEN

### 4.3.1. A VIZSGÁLAT KEZDEMÉNYEZÉSÉNEK ELŐZMÉNYEI

A megfigyelés-sorozatot saját kezdeményezésű vizsgálatként klinikánk diabetológiai járóbeteg szakrendelésén végeztem. A vizsgálat kezdeményezésének alapgondolatát részben a szakirodalomból ismert tényanyag, részben a saját in vitro, ill. idegélettani állatkísérletes vizsgálatok alapján levont következtetések, részben biológiailag aktív, szerves króm(III) - vegyületeket tartalmazó élelmi rostkészítmények előállítására kidolgozott szabadalmunk képezte.

#### 4.3.1.1. Szakirodalomból ismert tényanyag

A szakirodalomból ismert, a témára vonatkozó tényanyagot az irodalmi összefoglalóban részleteztem. Az ott összefoglalt ismeretek közül a vizsgálat kezdeményezése szempontjából a következő fontosabb ismereteket vettem figyelembe:

- a glükóztolerancia faktor felfedezése, szerkezetének felderítése ($Cr^{3+}$ -tartalmú oligopeptid jellegű szerkezet), szerepének megismerése a glükóz hasznosulás folyamatában,
- a fokozott izomtevékenységgel (fokozott szénhidrát és zsírégetéssel) járó aktivitás (sportolás) és a vizelettel ürülő króm mennyisége közötti szoros összefüggés,
- a szövetek többségének (főként agyszövet) krómtartalma az életkor előrehaladtával fokozatosan csökken (időskori glükóz intolerancia, diabetes),
- tartós parenterális táplálás során kialakuló glükóz intolerancia, vagy diabetes szerves krómvegyületek hosszabb időn át, naponta adagolt, kicsiny mennyiségeivel kedvezően (drámai módon) befolyásolható,
- a diabeteshez gyakran társuló hiperlipidémia egyes laboratóriumi mutatói (vérzsír tükör), és a testtömeg többlet $Cr^{3+}$ -tartalmú készítményekkel kedvezően befolyásolhatók,

-a felsorolt tények némelyikének ellentmondásokkal terhes irodalmi megítélése.

### 4.3.1.2. Saját in vitro, illetve idegélettani állatkísérletes vizsgálataink

Saját in vitro kísérleteinket részletesen az 4.1., az idegélettani állatkísérletes vizsgálatainkat az 4.2. fejezet tartalmazza. A kísérletekből levont következtetések közül a fontosabbnak tartott megfigyeléseink, amelyek a saját kezdeményezésű humán vizsgálatok szervezéséhez vezettek a következők voltak:

- a vörösvértestek glükóz fogyasztása az inkubációs médiumba adagolt $Cr^{3+}$ -ionokkal befolyásolható, a hatás $Se^{4+}$ -ionok adagolásával fokozható,
- az inkubációs médiumba adagolt inzulin médiumból való eltűnésének sebessége (lebomlása, vagy a sejtközi térből a sejten belüli térbe kerülése) $Cr^{3+}$ -ionok adagolásával jelentősen gátolható,
- állatkísérletben a centrálisan adagolt streptozotocin glükóz monitorozó sejteket károsító hatása következtében kialakult 2-es típusú diabeteses állapothoz hasonló állapot $Cr^{3+}$ -ionok adagolásával javítható, a károsodás következményei jelentősen csökkenthetők,
- állatkísérletben a perifériásan adagolt streptozotocin pankreász szigetsejteket károsító hatása következtében kialakult 1-es típusú diabeteses állapot $Cr^{3+}$ -ionok adagolásával javítható, a károsodás következményei jelentősen csökkenthetők.

### 4.3.1.3. Biológiailag aktív, szerves króm(III) -vegyületeket tartalmazó élelmi rostkészítmények előállítására kidolgozott szabadalmunk

A diabeteses betegeken végzett kontrollált vizsgálat kivitelezéséhez, a kivitelezés során fellépő bizonytalanságok minimalizálása érdekében megfelelő tulajdonságokkal rendelkező, a gyógyszerészeti normáknak megfelelően készített és szigorúan ellenőrzött, több ezer kiszerelési egységnyi, króm(III)-tartalmú készítményre volt szükség.

*A készítménynek célszerűen a következő fő tulajdonságokkal kellett rendelkeznie, úgymint:*

- jól definiált, kellően nagy komplex stabilitási állandóval és megfelelő biohasznosulási értékkel rendelkező vegyület formájában tartalmazza a háromvegyértékű krómot,
- a króm mennyisége (50 µg/g) biztonságosan dozírozható legyen mind a készítmény gyártása, mind a felhasználása során,

- vehiculuma jól definiált legyen,
- a vehiculum tulajdonságai összeférhetőek legyenek az alapbetegség kezelésével,
- a vehiculum ne rendelkezzen farmakológiai aktivitással,
- lehetőleg javítsa, de semmi esetre se rontsa a hatóanyag biohasznosulását,
- a kiszerelési egység megjelenési formája minimalizálja a gyógyszer adherenciából fakadó bizonytalanságokat.

A fentieknek megfelelő kereskedelmi forgalomban levő készítményt nem sikerült találni. Ezért felhasználva egy korábbi, "Eljárás étkezési rostkészítmények előállítására" (P 22 51739, lajstromszám: 208 476 (1990) és egy későbbi " Eljárás biológiailag aktív krómkomplexet tartalmazó étkezési rostkészítmény előállítására" (P 96 00002, lajstromszám: 217 536 (1996)) vonatkozó szabadalmunkat, a vizsgálathoz felhasznált és a vizsgálat követelményeinek megfelelő készítményt folyamatos minőségellenőrzés mellett laboratóriumunkban készítettük, ill. szereltük ki.

*A készítmény főbb jellemző adatai:*

Vehiculum: étkezési nyersrost,

-vízkötő kapacitása: 10 g/g rost,

-olajkötő képessége: 5 g/g rost,

-vízoldható rész: szabványnak megfelelő.

Hatóanyag: kémiai formátuma $Cr^{3+}$ $(pikolinát)_3$,

-krómtartalma: 50 µg fém króm/kiszerelési egység

Kiszerelési formája nagynyomású polietilén fólia satchel

Címke öntapadós, vízálló, vonalkódolt

### 4.3.2. VIZSGÁLATI TERV ÉS ANNAK KIVITELEZÉSE

A vizsgálatokat klinikánk járóbeteg szakrendelésén már hosszabb ideje gondozott, diabeteses, önkéntes betegeken végeztük.

A vizsgálat célja, annak tisztázása volt, hogy

- A nem inzulin függő diabeteses vagy csökkent glükóz toleranciájú betegek állapota, összefüggésbe van-e szervezetük króm státuszával,
- Állapotuk javítható-e króm-pikolinát alkalmazásával,
- Vércukorháztartásuk egyensúlyban tartható-e a csökkentett dózisú antidiabetikus és adjuváns króm terápia egyidejű alkalmazásával.
- Amennyiben fennáll a zsíranyagcsere zavara, króm adását követően rendeződik-e?

A vizsgálattal kapcsolatos általános etikai szempontok:

A vizsgálóhely jelen kutatási terve összhangban volt a Helsinki Nyilatkozattal és az Egészségügyi Tudományos Tanács Kutatásetikai Bizottsága által kidolgozott alapelvekkel.

Az önkéntesek tájékoztatásának ismertetése:

Fontos feladat volt, hogy szóban és írásban felhívjam az önkéntesek figyelmét, hogy egy szűk, orvosi és hivatali titoktartásra kötelezett szakértői csoport hozzáférhet egészségügyi állapotával kapcsolatos bizalmas információkhoz a vizsgálati jelentés készítése és értékelése során. Továbbá, hogy megfelelő írásbeli és szóbeli tájékoztatás után megszerezzem az önkéntes írásbeli hozzájárulását.

A vizsgálat időtartamát a szakirodalmi tapasztalatok alapján hat hónapban rögzítettük.

A vizsgálat típusa: Nyílt, kontrollált. Gyógyélelmi adalék. A vizsgálandó személyek kísérleti elrendezése: a gondozott betegek korábbi megfigyelése alapján önkontrollos volt.

A befolyásolhatóságot (szubjektív értékelést) csökkentő intézkedések: a vizsgálathoz használatos műszerek, a vizsgáló módszerek és a vizsgáló személyzet végig azonos volt. A vizsgálatba bevont személyek diétája, egyéb gyógyszerelése a krómvegyület hatástalansága esetén a vizsgálat időtartama alatt változatlan volt. Hatásosság esetén szakmailag indokolt léptékben a mért vércukorértékek csökkenése alapján, arra törekedtünk, hogy az igényeknek megfelelően csökkentsük a per oralis antidiabetikum és az inzulin mennyiségét.

A vizsgálatba bevont személyek kiválasztása:

A vizsgálatba azokat a személyek választottuk be, akiknél a csökkent glükóztolernacia fennállása igazolható volt 75 g oralis glükózterhelést követően, vagy már ismert diabetes esetén. Azok a személyek kerülhettek be a vizsgálatba,

- aki a független vizsgáló orvos alapján bevonható volt,
- a vizsgálatban való részvételi szándékát nyilatkozat aláírásával megerősítette,
- a vizsgálat megkezdésének időpontjában egészségi állapota nem különbözött klinikailag jelentős mértékben az alkalmassági vizsgálatok kivitelezésének időpontjában észlelthez képest.

A vizsgálatba nyolc, hosszabb ideje gondozott, inzulinnal vagy orális antidiabetikummal kezelt, a vizsgálatban való részvételre önként vállalkozó beteget, és egy frissen felfedezett, a vizsgálatra szintén önként vállalkozó egyént vontam be. Az összes önkéntes a vizsgálatot megelőzően szűrővizsgálaton vett részt, egészségi állapotának objektív megítélése szempontjából.

Kizáró okok között szerepelt, ha az anamnézisben bármilyen allergiás betegség szerepelt (elsősorban krómra feltett pozitív bőrpróba). Gyógyszertúlérzékenység. Tartós

jelentős enzim indukciós állapotot előidéző körülmények (egy évvel korábbi rendszeres dohányzás, induktor jellegű kemikáliákkal való véletlen vagy foglalkozási ártalomból következő rendszeres expozíció, stb.). Kizáró ok volt továbbá az alapbetegséghez társuló akut betegség, olyan krónikus betegség, mely kontraindikálja a szer adását, akutan adott nem-szelektív béta-blokkoló, az önkéntességi nyilatkozat aláírásának képtelensége, a vizsgálat bármely szakaszában részvételi képtelenség. Más klinikai vizsgálat az elmúlt 6 hónapon belül. Az alapvizsgálat időpontjához képest nem alkalmazott, új gyógyszeres kezelés a megelőző 14 napon belül, beleértve a penicillint és származékait, szedatívum, vagy ajzószer alkalmi használatát, a keringési státusz megváltozásával járó nem gyógyszeres beavatkozásokat is.

Drop out akkor történt, ha az önkéntes saját elhatározása alapján külön indoklás nélkül, bármely időben és okból a vizsgálatot megszakította, melyet azonnal regisztráltunk. A független belgyógyász vagy a vizsgáló orvos a vizsgálatot megszakíthatta, ha

- szignifikáns advers reakció lépett föl
- elégtelen együttműködési készség volt,
- a biológiai minta legyűjtésének meghiúsulása,
- a protokoll előírásaitól való bármely eltérés,
- vagy ha az önkéntes egészségügyi érdekeit, személyiségi jogait sértő körülmény lépett fel a vizsgálat időtartama alatt.

Olyan személyek kerültek be a vizsgálatba, aki írásban és szóban informált, rendszeresen alkoholt, kávét nem fogyasztó, nem dohányzó férfi, illetve nem terhes nő.

A vizsgálatot az önkéntes saját elhatározása alapján, külön indoklás nélkül bármely időben és bármely okból megszakíthatja, melyet azonnal írásban rögzíteni kell.

A vizsgálatok kivitelezése ambulanter, a Lokális Kutatásetikai Bizottság engedélye alapján, az előre kidolgozott vizsgálati terv szerint történt. A vizsgálat során észlelt vitális életjeleket és klinikai kémiai paramétereket az egyéni követési lap formátuma szerint, egyénenként rögzítettük.

A vizsgálandó termék:

Név: Chromefibre

Hatóanyag: Króm-pikolintát komplex

Összegképlet: $C_{12}H_{10}O_4N_2CrCl_3$

Molekulatömeg: 404,57 g

Dozírozási forma: orális

Hatóanyag tartalom: 100, illetve 250 µg/sachel.

Alkalmazandó dózis: két sachel/nap.

Alkalmazási idő: naponta (hat hónapon keresztül) orális.

Az első napon az önkéntes az osztályon, az egészségügyi személyzet jelenlétében, az egészségügyi állapota ellenőrzését követően az első adagot beveszi éhgyomorra, az előírt kefírbe beletéve, majd egy órán keresztül megfigyelés alatt tartottuk.

A vizsgálat megkezdést követően a protokollban leírt paramétereket vizsgálatuk folyamatosan a hat hónap alatt. EKG, testtömeg, testhőmérséklet, vérnyomás, szívfrekvencia. Szubjektív tünetek megjelenése esetén külön szubjektív tünetskála alkalmaztunk (score: 0-3) az egyéni adatlapban.

### 4.3.3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

## 4.3.3.1. Nyolc gondozott beteg

A betegek életkora 35-62 év között volt, testsúlyuk 64-110 kg között mozgott. Diabetesük fennállása (2 hónap - 8 év).

A nyolc, hosszabb idő óta .gondozott beteg diabeteses, ill. az alapbetegségük kísérő betegségekén felfogható hiperlipidémiás állapotát a vizsgálat időszaka alatt tükröző releváns klinikai kémiai paramétereit, azaz:

- éhgyomri vércukor,
- fruktózamin,
- hemoglobin $A_{1c}$,
- triglicerid,
- szérum koleszterin,
- szérum HDL-koleszterin mint primeren mért paramétereket, és a
- szérumkoleszterin/HDL koleszterin arányt, mint számított jellemzőt statisztikai értékelésnek vetettük alá. Az értékelés során vizsgáltuk az egyes, a betegségre jellemző paraméterek változását a kezelés megkezdését követően eltelt idő függvényeként.

1. Az egyéni sajátosságok hatásának csökkentése érdekében minden mért értéket a 7 megfigyelési időpont adataiból számított leggyakoribb értékre (MFV = Most Frequent Value) normáltuk. Az MFV a számtani középértékhez hasonló jellegű, de nem paraméteres statisztikai mutató, így az outlierekre kevésbé érzékeny.

2. A mért adatok között a normálás után is voltak kiugró értékek. Mivel a jelenség okát nem ismerjük, ezért a kiugró értékek elhagyását nem tartottuk megengedhetőnek.

Azonban úgy csökkentettük a kiugró értékek hatását, hogy a 8 önkéntes adatainak átlagolása előtt az egyes adatokhoz súlyokat rendeltünk, és súlyozott átlaggal számoltunk.
Vizsgálatonként és személyenként regressziós egyenest illesztettünk a normált pontokra, a leggyakoribb érték szerinti kiegyenlítéssel. Mint nem-paraméteres eljárás, tehát nem követeli meg az adatok normális eloszlását. Az eljárás kimenő paraméterei közül az egyenes meredeksége, a tengelymetszet és a dihéziót határoztuk meg. A dihézió ebben az esetben is szórás jellegű mennyiség, az illesztésbe bevont pontoknak az egyenes körüli koncentrálódását (pontosabban a koncentrálódás reciprokát) jellemzi. Ezek után, az MFV-regresszió elméletével összhangban, az egyenest meghatározó egyedi pontok súlya:

$$\text{Súly} = 1/(\varepsilon^2+d_i^2) \text{ ahol}$$

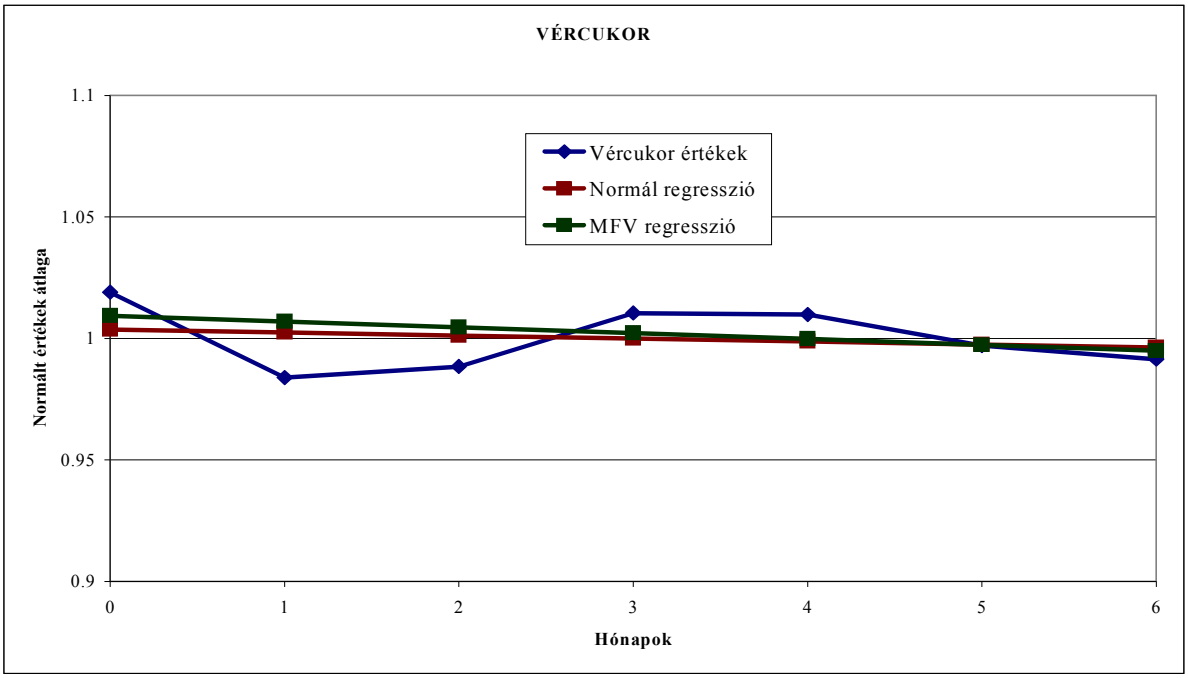
$\varepsilon$ = az MFV-regresszióból kapott dihézió

di = az i-edik pontnak az egyenestől mért távolsága

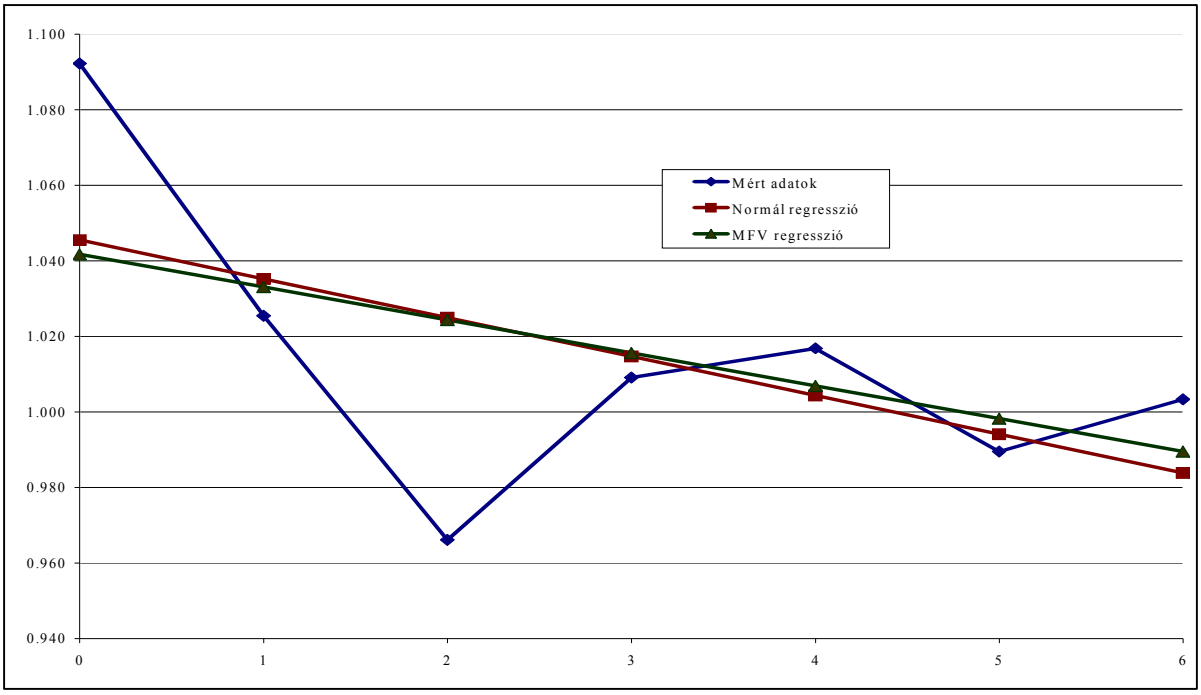
3. A súlyok ismeretében minden időpontra és minden jellemző paraméterre (vércukor stb.) kiszámoltuk a 8 önkéntestől kapott, a már előzőleg normált adatok átlagát. Ezeknek az értékeknek az időbeli változását diagramban ábrázoltuk.
Az alábbi táblázat mutatja a regresszió-számításokhoz tartozó variancia analízis során kapott egyenesek meredekségére vonatkozó megbízhatósági adatokat.
A vizsgálat során a szignifikancia határát $p< 0,05$-nek tekintettük.

A vizsgálatban résztvevő nyolc beteg adataiból szerkesztett átlagos idő szerinti jelleggörbéket a mellékelt, normált értékekből szerkesztett ábrák szemléltetik.
A jelleggörbék idő szerinti változása azt tükrözi minden vizsgált, releváns paraméter esetén, hogy a korábban alkalmazott gyógyszeres terápia fenntartása mellett a krómterápia bevezetése a krónikus állapot enyhe javulását eredményezte. A statisztikai elemzés szerint a változás mértéke a hemoglogin $A_{1c}$ és a koleszterin esetében haladja meg az 5% -os szignifikancia határát.

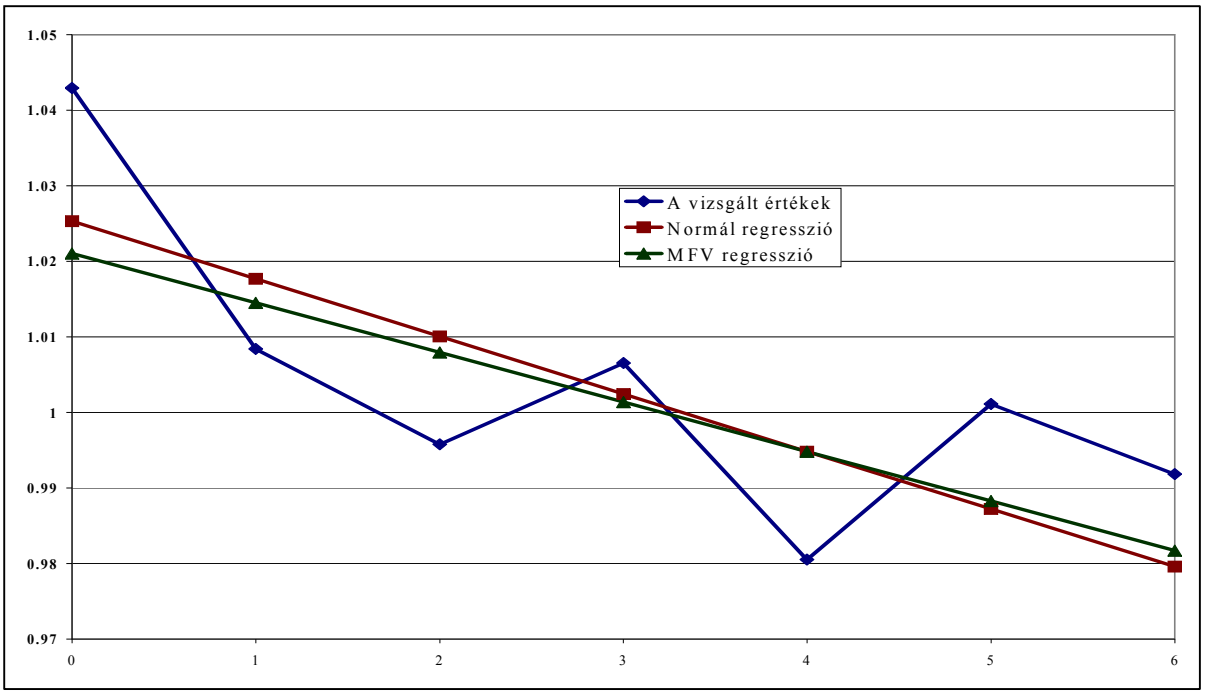
Véleményem szerint az összemérhetőség határán kívül eső értékek egyrészt a hosszú vizsgálati idővel, másrészt a nagy egyéni variabilitással, és az esetszám alacsony voltával magyarázhatók.



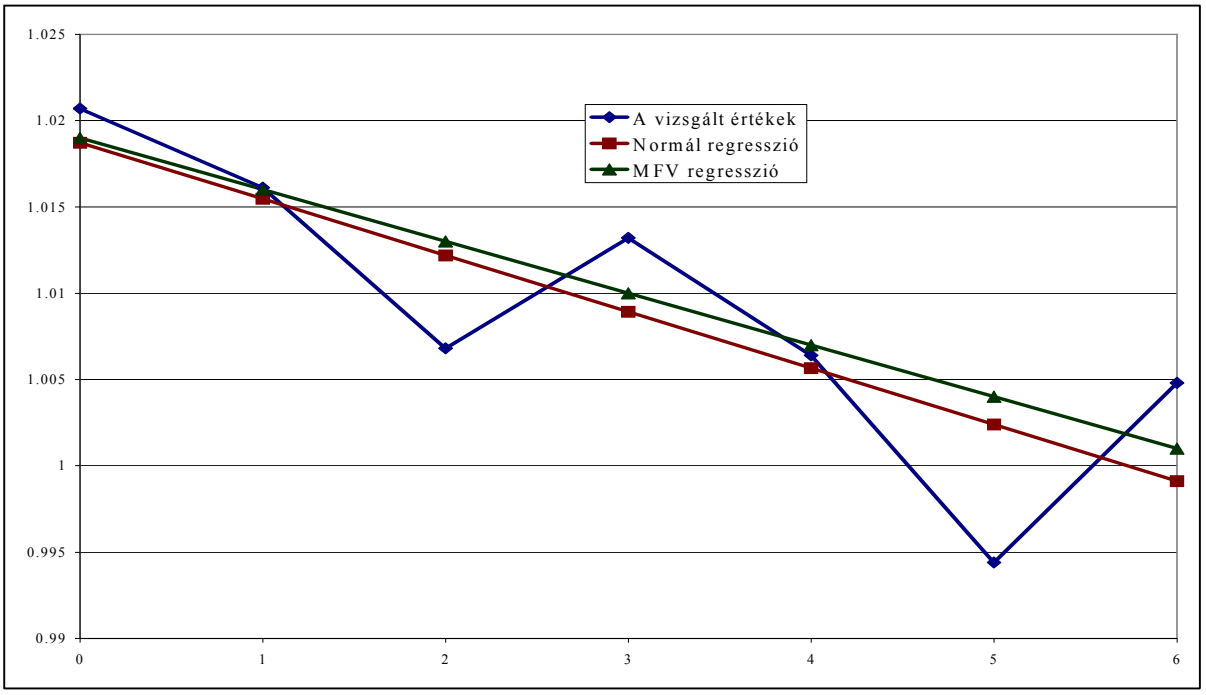

25. Ábra. Az éhgyomri vércukorszintek változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján



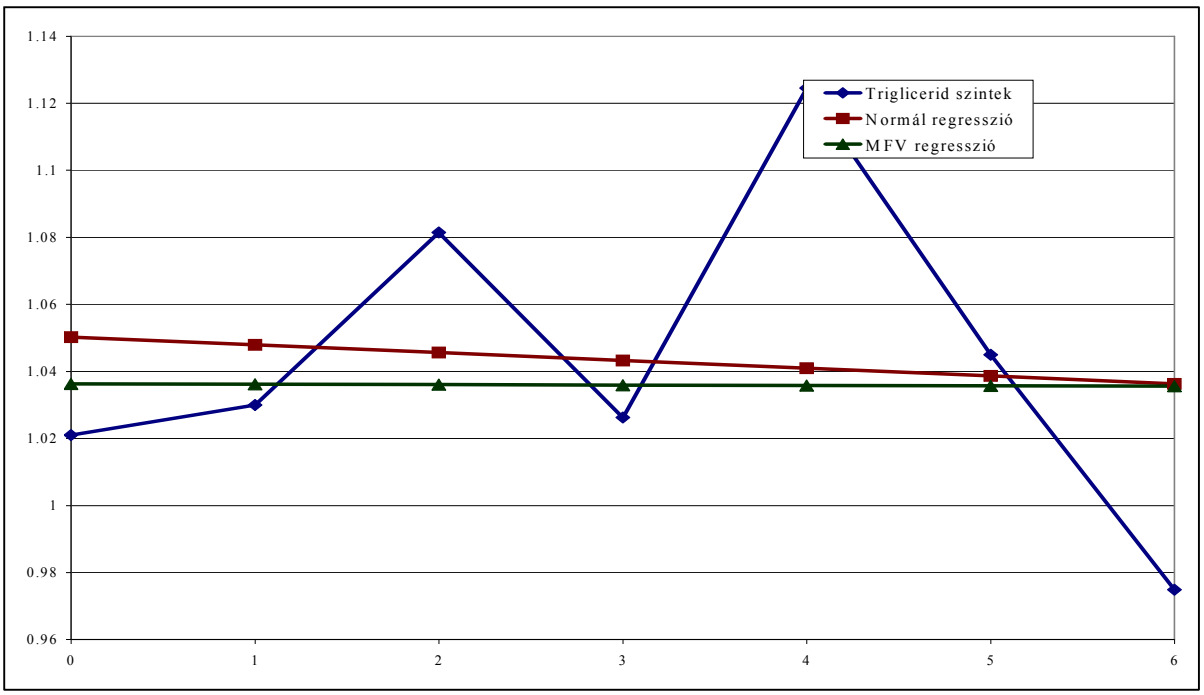

*26*. Ábra. A fruktózamin szintek változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján



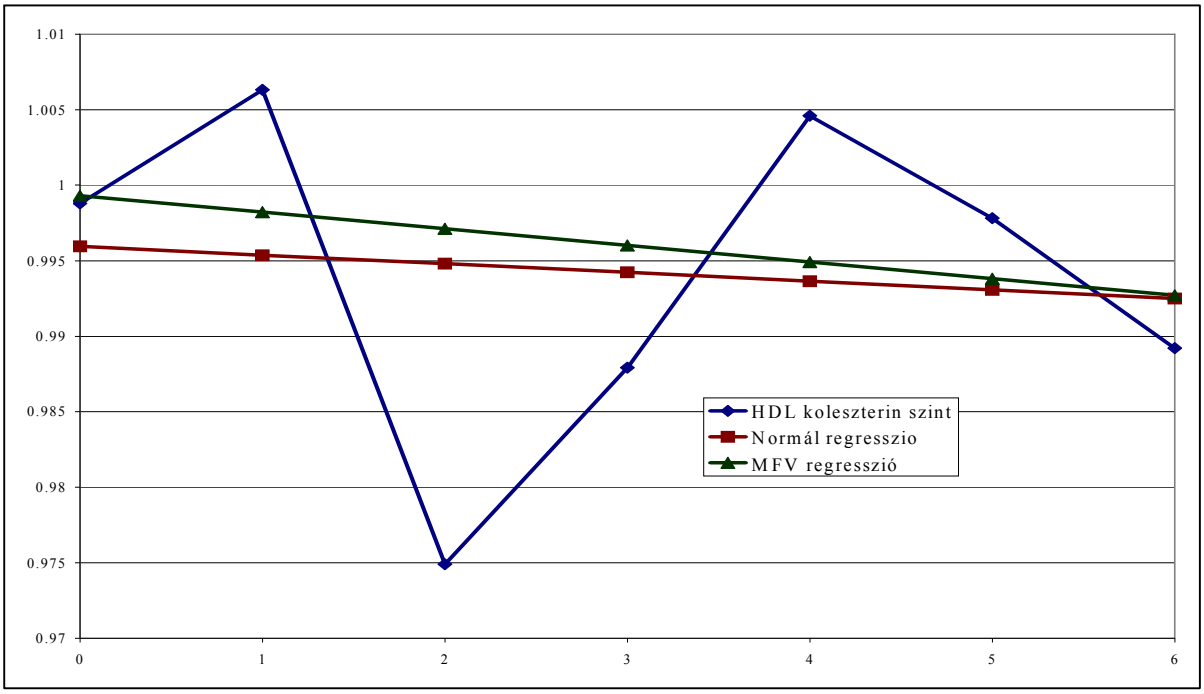

*27*. Ábra. HgbA1c szintek változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján



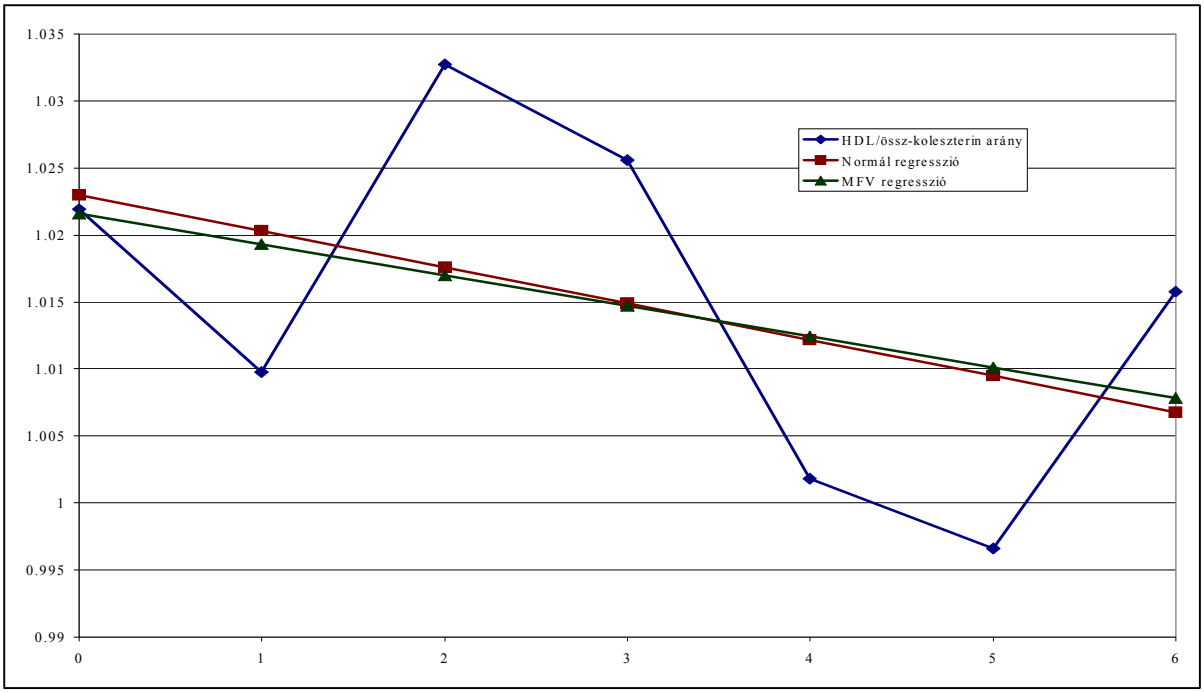

*28*. Ábra. Szérum koleszterin szintek változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján




*29*. Ábra. Szérum triglicerid szintek változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján




30. Ábra. Szérum HDL koleszterin szint változása a vizsgált hat hónap alatt a vizsgált 8 beteg adatai alapján




31. Ábra. Szérum HDL/összkoleszterin szint arány változása a vizsgált hat hónapban a vizsgált 8 beteg adatai alapján

## 4.3.3.2. Egy frissen felfedezett diabeteses eset ismertetése

Sz. S. 40 éves férfi beteg, akit frissen felfedezett diabetes mellitus diagnózisa miatt utaltak be szakrendelésünkre. Panaszai közül kiemelendő enyhe szájszáradás, olykor homályos látás. Laboratóriumi eredményei közül említésre méltó emelkedett vércukorszintje és lipid értékei (triglicerid, koleszterin). Anamnézisében érdemi megbetegedés nem szerepelt, lázas betegsége nem volt az ezt megelőző időben. Hosszabb időn keresztüli parenterális táplálásra a közelmúltban nem szorult, életmódi szokásai között nyomelem hiányt eredményező, szelektív, kultikus diéta nem volt kimutatható. Családi anamnéziséből kiderült, hogy édesanyja cukorbeteg. Fizikális státusa korának megfelelő volt, belszervi eltérés nem igazolódott. Szemfenéki vizsgálatán retinopátiára utaló jelet nem észleltek (kezdődő friss diabeteses eset). Ketoacidózisa nem volt. EKG -ja normális volt a vizsgálat előtt, a vizsgálat időszaka alatt, és azt követő ismételt vizsgálatok során is.

Oralis antidiabetikus gyógyszeres terápia helyett előzetes felvilágosítást követően, a beteg beleegyezésével krómterápiát indítottam. A hathónapos megfigyelés alatt vércukorértékei, lipidparaméterei fokozatosan csökkentek, majd a harmadik hónap végére a normál tartományba kerültek. Ezek az értékek stabilizálódtak a vizsgálat hátralévő időszaka alatt, majd azt követően is. Továbbra is rendszeresen jár ellenőrző vizsgálatra, szénhidrát és

lipid anyagcseréje azóta is, változatlanul egyensúlyban van. Panaszai már az első hónap végére megszűntek, látászavara megszűnt, azóta sincs.

### 4.3.4. KÖVETKEZTETÉSEK

Az 4.3.3. fejezetben foglalt vizsgálati eredmények és megfigyelések alapján az alábbi következtetések vonhatók le.

1./ Az antidiabetikus kezelést krómterápiával kiegészítve minden esetben a kezelések hatékonyságának növekedését lehetett megfigyelni.

2./ Úgy tűnik, hogy a hatékonyság növekedése mind az inzulinnal, mind orális antidiabetikummal kezelt esetekre érvényes.

3./ A krómterápia jótékony hatása figyelhető meg a vérzsír tükör alakulásának vizsgálata során is.

4./ A hosszan tartó szulfanil-urea kezelésben részesült betegek esetén a krómterápia eredményessége kétséges, bár a rendelkezésünkre álló esetek száma miatt a következtetés némi fenntartással kezelendő.

5./ A fentiek alapján felvethető a krómterápia kiegészítő kezelésként való alkalmazása, ha :

- az alkalmazott antidiabetikummal szembeni érzékenység csökkenése lép fel (még a dóziseszkaláció, vagy gyógyszerváltás előtt),
- az előző megállapítás mind inzulinnal, mind orális antidiabetikumokkal kezelt esetekre vonatkoztatható,
- kezdődő fiatal nem inzulin dependens és kezdődő öregkori diabeteses esetekben (frissen feltárt elváltozások) még az orális antidiabetikumokkal való kezelés megkezdése előtt érdemes megkísérelni a krómterápiát (lásd: 4.3.3.2.), majd a krómterápia eredményétől függően dönteni az esetlegesen szükséges további terápiás beavatkozásról.

Irodalmi leírások és saját in vitro és in vivo vizsgálataink alapján úgy látom, hogy a három vegyértékű szerves krómvegyületek hatásosak lehetnek csökkent glükóztoleranciás, 2. tipusú cukorbetegek és parenterális táplálás során kialakult diabetes kezelésében. Hangsúlyozni kívánom –nem tekintve egyes speciális eseteket (esettanulmány)–, a krómterápiát nem a szokásos antidiabetikus terápia helyett, hanem annak kiegészítéseképpen javaslom. (Keszthelyi és mtsai, 2003)

# 5. ÖSSZEFOGLALÁS

Irodalmi adatok és saját kísérletes vizsgálataink alapján elmondható, hogy a króm(III) vegyületeknek fontos szerepe van a 2-es típusú diabetes mellitus patológiájában és kezelésében.

In vitro vizsgálataink alapján, a vörösvértest modellen végzett kísérletek rámutattak arra, hogy az inzulinreceptorral nem rendelkező sejtekben is fontos szerepet játszik a króm. A króm és a szelén képes az inzulinmolekula stabilitására, így levonható a következtetés, miszerint in vivo körülmények között is hasonló hatással rendelkezik.

Állatkísérletes vizsgálatunkban a króm előkezelés megakadályozta ventromediális hipotalamuszba adott streptozotocin mikroinjekció keltette homeosztatikus zavarok kialakulását. Valószínűsíthető, hogy az agy króm szintjének lokális változásai hatással lehetnek a helyi glükóz-receptor neuronok működésére. Az agy krómtartalmának csökkenése (például a kor előrehaladtával), összefüggést mutathat a szénhidrát anyagcsere központi szabályozásában kialakuló zavarokkal.

Humán vizsgálatainkban orálisan alkalmaztuk a krómterápiát. A hat hónapos vizsgálat során csökkent a vércukorszint, és a lipid értékek is. Azoknál a betegeknél, ahol régóta állt fenn a diabetes, és évek óta szulfanilureákat szedtek, a króm hatása nem volt jelentős. Viszont ott, ahol a szulfanilurea kezelés nem szerepelt az anamnézisben, a krómkezelés effektívnek bizonyult.

Kutatócsoportom távolabbi célja, hogy további állatkísérletes vizsgálatokkal és nagyobb számú beteganyagon szerzett tapasztalatokkal további, a gyakorlatban is hasznosítható ismereteket szerezzünk a króm biológiai hatására vonatkozóan.

# 6. FELHASZNÁLT IRODALOM


1. ANDERSON R. A. (1993): Recent advances in the clinical and biochemical effects of chormium deficinecy. Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease 380 :221-234

2/A. ANDERSON R. A. (1998): Chromium, glucose homeostasis and diabetes. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium, San Antonio

2/B. ANDERSON R. A. (1998): Chromium, glucose intolerance and diabetes. J. Am. Coll. Nutrition, 17.: 548-555

3. ANDERSON R. A. (1995): Chromium and parenteral nutrition. Nutrition, Supplement 11

4. ANDERSON R..A. (1999): Chromium and diabetes. Nutrition 15: 720-722

5. ANDERSON R. A. (2000): Chromium in the prevention and control of diabetes. Diabetes Metabolism 26: 22-27

6. ANDERSON R. A., BRYDEN N. A. (1983): Concentration, insulin potentiation and absorption of chromium in beer. J. Agric. Food Chem. 31 :308-311

7. ANDERSON R. A., BRYDEN N. A. and POLANSKY M. M. (1985): Serum chromium of human subjects: Effects of chromium supplementation and glucose. Am. J. Clin. Nutr.41 :571-577

8. ANDERSON R. A., BRYDEN N.A., POLANSKY M.M., REYNOLDS R., ANDON M., MOSER-VEILLON P. (1988): Elevated chromium intake, absorption and urinary excretion of lactating women. FASEB J.2:1102A

9. ANDERSON R. A., CHENG N., BRYDEN N. A., POLANSKY M. M., CHI J., FENG J. (1997): Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. Diabetes 46: 1786-91

10. ANDERSON R. A., KOZLOVSKY, A.S. (1985): Chromium intake, absorption and excreation of subject consuming self-selected diets. Am. J. Nutr. 41.: 1177-1183

11. ANDERSON R. A., POLANSKY M. M., BRYDEN N.A., BHATHENA S.J. and CANARY J.J. (1987): Effects of supplemental chromium on patients with symptoms of reactive hypoglycaemic. Metabolism 36 :351-355

12. ANDERSON R. A., POLANSKY M.M., BRYDEN N.A., ROGINSKI E.E., MERTZ W., GLINSMANN W.H. (1983): Chromium supplementation in human subjects: effect on glucose, insulin and lipid parameters. Metabolism, 32: 894-899

13. ANDERSON R. A., ROUSSEL A.M., ZOUARI N., MAHJOUB S., MATHEAU J.M. (2001): Potential antioxidant effects of zinc and chromium supplementation in people with type 2 diabetes mellitus. J. Am. Coll. Nutr. 20:212-218

14. ASHCROFT F. M., HARRISON D. E., ASHCROFT S. J. H. (1984): Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic beta cells. Nature 312: 29

15. AWADALLAH R. and HANNA A. (1980): Serum enzyme due to trace amounts of some transition metal ions on the induction of experimental diabetes. Z. Ernährungswiss, 19. :103-110

16. BAHADORI B., WALLNER S., SCHNEIDER H., WASCHER T.C. und TOPLAK H. (1997): Effekt von chromhefe und chrompicolinat auf die körperzusammensetzung bei übergewichtigen, nichtdiabetischen patienten während und nach einer formula-diät, Acta Medica Austriaca 24: 185-187

17. BAHIRIJI S.M., MIRA S.A., MUFTI A.M., AJABNOOR M.A. (2000): The effects of inorganic chromium and brewer's yeast supplementation on glucose tolerance, serum lipids and drug dosage in individuals with type 2 diabetes. Saudi Med. J. 21:831-837

18. BERAN M., STAHL R., BERAN M.Jr. (1995): Glycaemic activity of chromium (III)-β-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate complex and its presence in yeast extracts. Analyst, 120 : 979-981

19. BOSCOLO, PAOLO, Di GIOACCHINO, MARIO, BAVAZZANO, PAOLO, WHITE, MARK, SABBIONI, ENRICO (1997): Effects of chromium lymphocyte subsets and immunoglobulins from normal population and exposed workers. Life Sciences 60:1319-1325

20. BOX, B.M. AND MOGENSON, G. J. (1975): Alterations in ingestive behaviors after bilateral lesions of the amygdala in the rat. Physiol. Behav. 15:679-688

21. BROWM R.O., FORLOINES-LYNN S., CROSS R.E., HEIZER W.D. (1986): Chromium deficiency after long-term total parenteral nutrition. Dig. Dis. Sci. 31.: 661-664

22. BUKOWSKI J. A., GOLDSTEIN MICHAEL D., KORN L. R., JOHNSON B. B. (1991): Biological markers in chromium exposure assessment: confounding variables. Arch. Environm. Health 46: 230-236

23. CAREY M.P., ANISZEWSKI C. A. AND FRY J.P. (1994): Metabolism of progesterone in mouse brain. J. Steroid Biochem. (Molecular Biology) 50 :213-217

24. CARPENTIER J. L. (1993): The journey of the insulin receptor into the cell: from cellular biology to pathophysiology. Histochemistry, 100: 169-184

25. CASTRO V. R. (1998): Chromium in a series of Portuguese plants used in the herbal treatment of diabetes. Biol. Trace Elem. Res. 62: 101-106

26. CEFALU W. T. (1998): Chromium and insulin sensitivity. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium, San Antonio

27. CHEEMA S. K., CLANDININ M. T. (2001): Diet-and diabetes-induced change in insulin binding to the nuclear membrane in spontaneously diabetic rats is associated with change in tha fatty acid composition of phosphatidylinostol. J. Nutr. Biochem. 12: 213-218

28. CHENG N. (1998): Chromium-the Chinese experience. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium, San Antonio

29. CHHINA, G. S., ANAND, B. K., SINGH, B, AND RAO, P.S. (1971): Effect of glucose on hypothalamic feeding centers in deafferented animals. Am. J. Physiol. 221:662-668

30/a .CIHAD T. G. and GÜNAY S. (1978): The effect of glucose loading on urinary excretion of chromium in normal adults, in individuals from diabetic families and in diabetics. Am. J. Clin. Nutr. 31: 1158-1161

30/b. CIHAD T. G. and GÜNAY S. (1978): Urinary chromium excretion, diurnal changes, and relationship to creatinine excretion in healthy and sick individuals of different ages. Am. J. of Clin. Nutr. 31: 1162-1166

31. CLAUSEN J. (1988): Chromium induced clinical improvement is symptomatic hypoglycaemia. Biol. Trace Elem. Res. 17: 229-236

32. CUNNINGHAM J. (1998): Micronutrients as nutriceutical interventions in diabetes mellitus. J. Am. Coll. Nutr., 17: 7-10

33/a. DAVIS C. M. and VINCENT J.B. (1997): Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. Biochemistry, 36: 4382-4385

33/b. DAVIS C. M. and VINCENT J.B. (1997): Isolation and characterization of a biologically active chromium oligopeptide from bovine liver. Arch. Biochem. Biophys. 339: 335-343

34. DAVIES S., McLAREN H. J., HUNNISETT A., HOWARD M. (1997): Age-related decreases in chromium levels in 51,665 hair, sweat and serum samples from 40,872 patients-implivations for the prevention of cardiovascular disease and type II diabetes mellitus. Metabolism 46 : 469-473

35. DAVIS C. M., SUMRALL K. H. and VINCENT J.M. (1996): A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosinase phosphatase (PTP). Biochemistry 35: 12963-12969

36. DAVIS C.M., VINCENT J.M. (1996): Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. Biochemistry, 333: 335-343

37. DEAN P. M., and MATTHEWS E. K. (1970): Glucose induced electrical activity in pancreatic islet cells. J. Physiol. 210: 255-264

38. DONALDSON D. L., and RENNERT O. M. (1981): Chromium (III) metabolism by the kidney. Ann. Clin. Lab. Sci. 11.: 377-385

39. DUNN-MEYNELL A. A. , RAWSON N. E., LEVIN B. E. (1998): Distribution and phenotype of neurons containing the ATP-sensitive K channel in rat brain. Brain Research 814: 41-54

40. EGYED R., LUKÁTS B. and KARÁDI Z. (2000): Streptozotocin microinjection into the ventromedial hypothalamus evokes diabetes-like metabolic changes. Neurobiology 8(3-4): P. 309

41. EGYED R., LUKÁTS B. and KARÁDI Z. (2000): :Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. J. Physiol. Vol. 526 P: 173-174

42. EGYED R., LUKÁTS B. and KARÁDI Z. (2000): Ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection induces diabetes-like metabolic changes. Eur. J. Neurosci. Vol. 12, Suppl. 11: P. 158

43. EARLE K.E., ARCHER A.G., BAILLE J.E. (1989): Circulating and excreted levels of chromium after an oral glucose challenge: influence of body mass index, hypoglycemic drugs, and presence and absence of diabetes mellitus. Am. J. Clin. Nutr. 49.: 685-689

44. EKMEKCIOGLU C., PROHASKA C., POMAZAL K., STEFFAN I., SCHERNTHANER G. (2001): Concentrations of seven trace elements in different hematological matrices in patients with type 2 diabetes as compared to healthy controls. Biol. Trace Elem. Res. 79: 205-219

45. EVANS G.W. and POUCHNIK D.J. (1993): Composition and biological activity of chromium-pyridine carboxylate complexes. J. Inorg. Biochem. 49 :177-187

46. EVANS G.W., PRESS R.I. (1989): Cholesterol and glucose lowering effect of chromium picolinate. FASEB J, 3: 3101A

47. EVANS G.W., ROGINSKI E.E., MERTZ, W.V.(1973): Interaction of the glucose tolerance factor (GTF), with insulin. Biochem. Biophys. Res. Comm. 50: 718-722

48. EVOCK-CLOVER C. M., POLANSKY M. M., ANDERSON R. A. and STEELE N. C. (1973): Dietary chromium supplementation with or without somatotropin treatment alters serum hormones and metabolites in growing pigs without affecting growth performance. Am. Inst. Nutr. 123 :1504-1512

49. FENG W, QUIAN Q. DINGW, CHAI Z. (2001):Tissue contents and subcellular distribution of chromium and other trace metals in experimental diabetic rats after intravenous injection of Cr $^{50}$-enriched stable isotopic tracer solution. Metabolism 50: 1168-74

50. FONBERG E. (1974): Amygdala functions within the alimentary system. Acta Neurobiol. Exp. 34: 435-466

51. FOX G.N., SABOVIC Z. (1999): Chromium picolinate supplementation for diabetes mellitus. J. Fam Pract. 46: 83-86

52. GARGAS M.L.HAYS S.M., KATONA M.A., FINLEY B.L. (1998): The kinetics of dietary chromium (CrIII). Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium, San Antonio

53. GHAFGHAZIE T., McDANIEL M.L., LACY P.E. (1980): Chormium-induced inhibition of insulin secretion from isolated islets of Langerhans. Diabetologia 18: 229-232

54. GIBBS, J., YOUNG, R.C., AND SMITH, G. P. (1973): Cholecystokinin decreases food intake in rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 84: 488-495.

55. GLINSMANN W.H., MERTZ W. (1966): Effect of trivalent chromium on glucose tolerance. Metabolism 15: 510-520

56. GOODMAN H. M. (1970): Regulation of lipid metabolism. Physiologist 13: 75-88.

57/a. GOVINDARAJU K., RAMASWAMI T., RAMASWAMY D. (1989): Chromium (III)-insulin derivates and their implication in glucose metabolism. J. Inorg. Biochem. 35: 137-147

57/b. GOVINDARAJU K., RAMASWAMI T., RAMASWAMY D. (1989):Chymotrypsin-catalyzed hydroxysis of chromium(III) derivates of insulin:evidence for stabilization of the protein through interactions with metal ions. J. Inorg. Biochem. 35: 127-135

58. GRANADILLO V.A., de MACHADO L.P. and ROMERO R. A. (1994): Determination of total chromium in whole blood, components, bone, and urine by fast furnace program electrothermal atomization AAS and using neither analyte isoformation nor background correction. Anal. Chem. 66: 3624-3631

59. GRANT K.E., CHANDLER R. M., CASTLA A.L., and IVY J. L. (1997): Chromium and exercise training: effect on obese women. J. Am. Coll. Sports Med. 29: 992-998

60. GRILL, H.J. and SMITH, G. P. (1988): Cholecystokinin decreases sucrose intake in chronic decelebrate rats Am. J. Physiol.254: R853.

61. GROSSMAN S. P. (1975): Role of the hypothalamus in the regulation of food and water intake. Psychol. Rev. 82: 200-224

62. GUNTON J.E., HAMS G., HITCHMAN R., McELDUFF A. (2001): Serum chromium does not predict glucose tolerance in late pregnancy. Am. J. Clin. Nutr. 73:99-104

63. GURSON C.T., SANER G. (1971): Effect of chromium on glucose utilization in marasmic protein-calorie malnutrition. Am. J. Clin. Nutr. 24.: 1313-1319

64. HAN P. W., LIN C. H., CHU K. C., MU J. J.and LIN A. C.(1965): Hypothalamic obesity in wealing rats. Am. J. Physiol. 209: 627-631

65. HARDER T., AERTS L., FRANKE K., VAN BREE R., VAN ASSCHE F. A., PLAGEMANN A. (2001): Pancreatic islet transplantation in diabetic rats pervents acquired malformation of the ventromedial hypothalamic nucleus in their offspring. Neuroscience letters 299:85-88

66. HELLERSTEIN K.(2000): Is chromium supplementation effective in managing type II diabetes? Nutr.Rev., 56.: 302-306

67. HERNÁDI I., KARÁDI Z., FALUDI B. AND LÉNÁRD L.(1997): Disturbances in neophobia and taste-aversion learning after bilateral kainate microlesions in the rat pallidum. Behav. neuros. 111: 137-146

68. HESS W.R.(1954): Diencephalon: autonomic and extrapyramidal functions. Grune and Stratton, New York

69. HINSBERG K. and LANG K.(1957): Chromium in Biological Systems. *Medizinische Chemie, Urban and Schwarzenberg,* München – Berlin - Wien

70. HOPKINS L.L. Jr., RANSOME-KUTI O., MAJAJ A.S.(1968): Improvement of impared carbohydrate metabolism by chromium(III) in malnourished infants. Am. J. Clin. Nutr. 21:203-211

71. HSUEH W. A., LAW R. E.(1998): Cardiovascular risk continuum: implications of insulin resistance and diabetes. Am. J. Med. 105 :4S-14S

72. HUBNER G., NAACK K., ZUHLKE H., HARTAMNN K.(1994): Influence of trivalent chromium on the beta-cell function. Exp. Clin. Endocrinol. 93.: 293-298 (1989) Hypoth. 43:247-252

73. HUNT C.D., STOECKER B..J.(1996): Deliberations and evaluations of the approaches, enpoints and paradigms for boron, chromium and fluoride dietary recommendations. J. Nutr. 126: Suppl. 2441S-2451S

74. ISHIBASHI S., OOMURA Y. and OKAJIMA T.(1979): Facilitatory and inhibitory effects of TRH on lateralhypothalamic and ventromedial neurons. Physiol. Behav. 22: 785-787

75. JAIN S.K., KANNAN K.(2001):Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF-alpha secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937 monocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 289:687-691

76. JEEJEEBHOY (1998): Chromium and parenteral nutrition. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

77. JOVANOVIC L.(1998): Chromium supplementation for women with gestational diabetes improves glucose tolerance and decreases hyperinsulinaemia. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

78. KAATRS G.R., BLUM K., FISHER J. A., and ADELMAN J. A.(1996): Effects of chromium picolinate supplementation on body composition: A randomized, double-masked, placebo-controlled study. Research 57 :747-756

79. KAATS G.R.(1998): Chromium and body composition: methodological issues with human data. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

80. KARÁDI Z., EGYED R., FRIEDSZÁM E. and LUKÁTS B.(1998): Streptozotocin: a specific modulator (and diabetes inducing toxin) of forbrain glucose-monitoring neurons. Appetite 31 : 269-270

81. KARÁDI Z., EGYED R. and LUKÁTS B. (2000): Involvement of the orbitofrontal cortex (OBF) in the central homeostatic regulation. J. Physiol. Vol. 526 P: 169-170

82. KARÁDI Z., FALUDI B., LÉNÁRD L., CZURKÓ A., NIEDETZKY CS., and NISHINO H. (1995): Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. Brain Res. Bull. 37(2): 157-162.

83. KARÁDI Z., SCOTT T. R., OOMURA Y., NISHINO H., AOU S. and LÉNÁRD L. (1998): Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey. Ann. N.Y. Acad. Sci., 855: 488-493

84. KARÁDI Z., OOMURA Y., NISHINO H., SCOTT T.R., LÉNÁRD L., AOU S.(1988): Lateral hypothalamic andamygdaloid neuronal responses to chemical stimuli in the rhesus monkey. JASTS, H. Morita (Ed.), Ashai Univ. Press, Gifu, Japan:121-124

85. KARÁDI Z., OOMURA Y., NISHINO H., SCOTT T. R., LÉNÁRD L., AOU S. (1992): Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. J. Neurophysiol. 67: 389-400

86. KARLA S. P., DUBE M. G., SHUYE P., BIN X., HORVÁTH T. L., and KARLA P. S.(1999): Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. Endocrine Reviews 20: 68-100

87. KATAFUCHI T., ICHIJO T., TAKE S., and HORI T. (1993): Hypotalamic modulation of splenic natural killer cell activity in rats. J. Physiol. 471: 209-221

88. KEGLEY E.B. (1998): Chromium and cattle nutrition. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

89. KELLY G.S. (2000): Insulin resistance: lifestyle and nutritional interventions. Altern. Med. Rev. 5: 109-132

90. KENNEDY G. C. (1953): The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. Proc. Roy. Soc. B. 140: 578-592

91. KERGER B.D., PAUSTENBACH, CORBETT G.E., and FINLEY B.L. (1996): Absorption and elimination of trivalent and hexavalent chromium in humans following ingestion of a bolus dose in drinking water. Toxicol. Appl. Pharmacol 141 :141-158

92. KHAN A., BRYDEN N.A., POLANSKY M.M., ANDERSON R. A. (1990): Insulin potentiating factor and chromium content of selected spices. Biol. Trace Elem. Res. 24:183-188

93. KOBLA H.V., VOLPE S.L (2000).: Chromium, exercise, and body composition. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 62: 291-308

94. KOZLOVSKY A.S., MOSER P.B., REISER S., ANDERSON R.A. (1986): Effects of diets high in simple sugars on urinary chromium losses. Metabolism 35. :515-518

95. KRUSE-JARRES J.D., RUKGAUER M. (2000): Trace elements in diabetes mellitus. Peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells. J. Trace Element Med. Biol. 14: 21-27

96. KRZANOWSKI J. J. (1996): Chromium picolinate. J. of Florida Med. Ass., 83 :29-31

97. KULLIN M., LI Z., HANSEN J.B., BJÖRK E., SANDLER S., and KARLSSON F. A. (2000): K-ATP channel openers protect rat islets against the toxic effect of streptozotocin. Diabetes, vol. 49:1131-1136

98. LEE N. A., REASNER C. A. (1994): Beneficial effect of chromium supplementation on serum triglyceride levels in NIDDM. Diab. Care 17.:1449-1452

99. LEFAVI R. G., ANDERSON R. A., KEITH R. E., WILSON G. D., McMILLANJ J. L. and STONE M. H. (1992): Efficacy of chromium supplementation in athletes: emphasis on anabolism. Int. J. Sport Nutr. 2 :111-122

100. LEVIN B.E., DUNN-MEYNELL A.A., ROUTH V.H. (1999): Brain glucose sensing and body energy homeostasis: role in obesity and diabetes. Am. J. Physiol. 276:R1223-R1231

101. LEVINE R.A., STREETEN D.H.P., DOISY R.J. (1968): Effects of oral chromium supplementation on the glucose tolerance of elderly subjects. Metabolism 17.: 114-125

102. LIAM G. T., LEWIS J., GREENWOOD R. H., SAMPSON M. J., SELF K. A., CREWS H. M. and FAIRWEATHER-TAIT S. J. (2000): Lack of effect of dietary chromium supplementation on glucose tolerance, plasma insulin and lipoprotein levels in patients with type 2 diabetes. Int. J. Vitamin Nutr. Res. 70 : 14-18

103. LIM M. T., SARGENT III T. and KUSUBOV N. (1983): Kinetics of trace element chromium (III) in the human body. Am. J. Physiol. 244: R445-R454

104. LINDAY L. A. (1997): Trivalent chromium and the diabetes prevention program. Med. Hypotheses 49: 47-49

105. LINDEMANN (1998): Chromium in swine nutrition. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

106. LYNCH R.M., TOMPKINS L.S., BROOKS H. L., DUNN-MEYNELL A. A., LEVIN B. E. (2000): Localisation of glucokinase gene expression in the rat brain. Diabetes, vol. 49: 693-700

107. LYNNE A. D. (1996): Selenium metabolism and bioavailability. Biol. Trace Elem. Res.54 : 185-198

108. MAHDI G.S., NAISMITH D.J., PRICE R.G., TAYLOR S.A., RISTELI J., RISTELI (1994): Modulating influence of barley on the altered metabolism of glucose and of basement membranes in the diabetic rat. Ann. Nutr. Metab. 38,: 61-67

109. MAHDI G. S. (1995): Chromium in barley potentiates insulin. Am. J. Clin. Nutr., 61: 614-617

110. MAHDI G.S. (1996): Chromium deficiency might contribute to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, dyslipidaemia, and atherosclerosis, Diabet. Med. 13: 389-390

111. MALLARD B.A., BORGS P. (1998): Immunmodulatory effects of the essential nutrient chromium (III) in the peripartum dairy cow: Potential health benefits and effects on milk quality and production. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

112. MANNERING G. J., SHOEMAN J. A., and SHOEMAN D. W. (1994): Effects of colupulone, a component of hops and brewers yeast, and chromium on glucose tolerance and hepatic cytochrome P 450 in nondiabetic and spontaneously diabetic mice. Biochem. Biophys. Res. Comm. 200 :1455-1462

113. MARTINEZ O.B., MacDONALD A.C., GIBSON R.S., BOURN O. (1985): Dietary chromium and effect of chromium supplementation on glucose tolerance of elderly Canadian women. Nutr. Res. 5.: 609-620

114. MAYER J. (1955): Regulation and energy intake and the body weight. The glucostatic theory and the lipostatic mechanism. Annals New York Academy of Sciences, 63: 15-49

115. MAYER J., and MARSHALL N. B. (1956): Specificity of goldthioglucose for ventromedial hypothalamic lesions and obesity. Nature, 178: 1399-1400

116/a. McCARTY M. F. (1993): Homologous physiological effects of phenformin and chromium picolinate. Med. Hypoth. 41 :316-324

116/b. McCARTY M.F. (1993): Insulin resistante in Mexican Americans-A precursor to obesity and diabetes? Med. Hypoth. 41 :308-315

117/a. McCARTY M. F. (1994): Promotion of hepatic lipid oxidation and gluconeogenesis as a strategy for appetite control. Med. Hypoth. 42 :215-225

117/b. McCARTY M.F. (1994): Enhancing central and peripherial insulin activity as a strategy for the treatment of endogenous depression-an adjuvant role for chromium picolinate? Med. Hypoth. 43:247-252

118. McCARTY M. F. (1997): Longevtity effect of chromium picolinate-"Rejuvenation" of hypothalamic function? Med. Hypoth. 49: 143-152

119. McCARTY M.F. (1998): Subtoxic intracellular trivalent chromium is not mutagenic-implication for safety of chromium supplementation. Med. Hypotheses 50:423-433

120. McCARTY M.F. (2000): Toward practical prevention of type 2 diabetes. Med. Hypoth. 54: 786-793

121. McINTOSH M. (2000): A diet containing food rich in soluble and insoluble fiber improves glycemic control and reduces hyperlipidaemia among patiens with type 2 diabetes mellitus. Nutr. Rev. 59: 52-55

122. MENNEN B. (1994): Dietary chromium: An overview, modern nutrition in health and disease, Eight Ed, Shils, Olson and Shike, eds.

123/a. MERTZ W. (1993): Chromium in human nutrition: A review. Nutrition, 21 :626-633

124/b. MERTZ W. (1993): Interaction of chromium with insulin: A progress report. Nutr. Rev., 56. :174-177

125. MERTZ W. (1998): Forty years of chromium research. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

126. MIRSKY N. J. (1993): Glucose tolerance factor reduces blood glucose and free fatty acid levels in diabetic rats. J. Inorg. Biochem. 49 :123-128

127. MIRSKY N. (1998): Naturally occurin chromium compounds. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

128. MISHRA S., SINGH V., SRIVASTAVA S., SRIVASTAVA R., SRIVASTAVA M.M., DASS S., SATSANG G.P. AND PRAKASH S. (1995): Studies on uptake of trivalent and hexavalent chromium by maize (Zea mays). Fd. Chem. Toxic. 33 :393-397

129. MORRIS B. W. (1998): Chromium action and glucose homeostasis. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

130. MORRIS B. W., GRAY T. and MacNEIL S. (1995): Evidence for chromium acting as an essential trace element in insulin-dependent glucose uptake in cultured mouse myotubes. J. Edocrin. 144 :135-141

131. MORRIS B.W., KOUTAT S., ROBINSONT R., MacNEIL S. AND HELLERT S. (2000): Chromium supplementation improves insulin resistance in patients with Type 2 diabetes mellitus. Diabetic Medicine 17: 684-686

132. MORRIS B. W., MacNEIL S.,STANLEY K., GRAY T.A. and FRASER R.J. (1993): The inter-relationship between insulin and chromium in hyperinsulinaemic euglycaemic clamps in healthy volunteers. J. Endocrin., 139 :339-345

133. MOSSOP R. T. (1983): Effects of chromium (III) on fasting glucose, cholesterol and cholesterol HDL levels in diabetics. Centr. Afr. J. Med. 29.: 80-82

134. NATH R., MINOCHA J., LYALL V., SUNDER S., KUMAR V., KAPOOR S., DHAR K.L. (1979): Assessment of chromium metabolism in maturity onset and juvenile diabetes using chromium-51 and therapeutic response of chromium administration on plasma lipids, glucose tolerance and insulin levels. In Shapcott D. Huber (eds): "Chromium in human Nutrition and Metabolism", Amsterdam: Elsevier/North Holland, pp. 213-222

135. NISBETT R. (1972): Hunger, obesity and the ventromedial hypothalamus. Psychol. Rev. 79: 433-453

136. NISHINO H. ,OMURA Y.,KARÁDI Z.,LÉNÁRD L.,KAY Y.,FUKADA A.,ITO C.,MIU B.I. and PLATA-SALAM C.P. (1988):Internal and external information processing by lateral hypothalamic glucose-sensitive and insensitive neurons during bar press feeding behaviour in the monkey.Brain Res. Bull.20:839-846

137. O' FLAHERTY E. J. (1996): A physiologically based model of chromium kinetics in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 138, 54-64

138. OFFENBACHER E.G., PI-SUNYER F.X. (1985): Beneficial effects of chromium-rich yeast on glucose tolerance and blood lipids in elderly subjects. Diabetes 29.: 919-925

139. OFFENBACHER E.G., RINKO C.J., PI-SUNYER FX (1985): The effects of inorganic chromium and brewer's yeast on glucose tolerance, plasma lipid and plasma chromium in elderly subjects. Am. J. Clin. Nutr. 42.: 454-461

140. OKADA S., TSUKADA H., TEZUKA M. (1989): Effect of chromium (III) on nuclear RNA synthesis. Biol. Trace Elem. Res. 21: 35-39

141. ONO T., and OOMURA Y. (1975):Excitatory control of hypothalamic ventromedial nucleus by basolateral amygdala in rats.Pharmac.Biochem.Behav.3:37-47

142. OOMURA Y. (1973): Central mechanisms of feeding. In Advance of Biophysics. M. Kotani (Ed.)Tokyo Univ. Press, Tokyo, pp. 65-142

143. OOMURA Y.,KIMURA K.,OOYAMA H.,MAENO T.,IKI M.,and KUNIYOSHI M. (1964):Reciprocal activites of the ventromedial and lateral hypothalamic areas of cats.Science 143:484-485

144. OOMURA Y., NISHINO H., KARÁDI Z., AOU S. and SCOTT T.R, (1992): Central catecholaminergic and opiodergic modulation and taste and olfactory inputs on feeding related neurons in behaving monkey. In: S.K. Manchanda, W. Selvamurthy, V. Mohan Kumar (Eds.) Advances in physiological sciences (pp.648-440) Macmillan India Limited, New Delhi

145. OOMURA Y., ONO T., OOYAMA H.,WAYNER M.J. (1969):Glucose and osmosensitive neurons of the rat hypothalamus. Nature (London) 222:282-284

146. OOMURA Y., OOYAMA H., SUGIMORI M., NAKAMURA T. and YAMADA Y. (1974): Glucose inhibition of the glucose-sensitive neurons in the lateral hypothalamus. Nature (London) 247: 284-286

147. PENEFSKY Z. J.and ELWOOD J. C. (1996): Mechanical responses of chromium-deficient developing rat heart. Comp. Biochem. Physiol. 114 :175-187

148. POLANSKY M.M., BRYDEN N.A, ANDERSON R. A. (1998): Chromium absorption and utilization. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

149. PORTER D.J., RAYMOND L.W., ANASTASIO G.D. (1999): Chromium: friend or foe? Arch. Fam. Med. 8: 386-390

150. POTTER J.F., LEVIN P., ANDERSON R. A., FREIBERG J. M., ANDRES R., and ELAHI D. (1985): Glucose metabolism in glucose-intolerant older people during chromium supplementation. Metabolism 34: 199-204

151. PREUSS HR. (1998): Chromium can overcome elevated systolic blood pressure in hypertensive and normotensive rats. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

152. PREUSS H. G., and ANDERSON R. A. (1998): Chromium update: examining recent literature 1997-1998. Clin. Nutr. Metabol. Care 1. :509-512

153. RABINOWITZ M.B., GONICK H.C., LEVIN S.R., DAVIDSON M.B. (1983): Clinical trial of chromium and yeast supplements on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic men. Biol. Trace Elem. Res. 5:449-466

154. REAVEN G.M. (1998):Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 37:1595

155. RENDELL M.S., KIRCHAIN W.R. (2000):Pharmacotherapy of the type 2 diabetes mellitus. Ann. Phamacother. 34: 878-895

156. RERUP C. C. (1970): Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharmacol. Rev. 22: 502-514

157. RICHTERICH R. and COLOMBO J. P. (1981): *Clinical Chemistry, John Wiley and Sons Chichester - New York – Brisbane - Toronto*

158. ROE J.H.(1955): Blutzuckerbestimmung und Zuckerbestimmung in der Spinalflüssigkeit mit dem Anthronreagenz. J.Biol. Chem. 212: 335

159. ROMERO R.A., SALGADO O., RODRÍGUEZ-ITURBE B., and TAHÁN J.E. (1996): Blood levels of chromium in diabetic and nondiabetic hemodialysis patients. Transplant. Proc. 28 3382-3384

160. ROWLAND N. (1977): Metabolic control of feeding: relating contribution of hepatic and cerebral chemoreceptors. Proc. Internatl. Union Physiol. Sci. 12: 445

161. RYAN E.A., PICK M.E., MARCEAU C. (2001): Use of alternative medicines in diabetes mellitus. Diabet. Medicine 18: 242-245

162. SANDHOLM M. (1975): Function of erythrocytes in attaching selenite-Se onto specific plasma proteins. Acta Pharmacol. Toxicol. 36 :321-327

163. SCHACHTER S., NELSON R.W., KIRK C.A. (2001): Oral chromium picolinate and control of glycaemia in insulin-treated diabetic dogs. J. Vet. Intern. Med. 15:379-384

164. SCHUIT F. C., HUYPENS P., HEIMBERG H., and PIPELEERS D. G. (2001): Glucose sensing in pancreatic β-cells. A model for the study of other glucose-related cells in gut, pancreas and hypothalamus. Diabetes, 50, 1-10

165. SCHULZ L. O., WEIDENSEE R. C. (1993): Non-insulin-dependent diabetes mellitus in Mexico. Progr. Food Nutr. Sci. 17.: 99-117

166. SEXTON W. L. (1994): Sceletal muscle vascular transport capacity in diabetic rats. Diabetes 43.: 225-231

167. SHARMA D.C. and FORSTER C.F. (1995):Continous adsorption and desorption of chromium ions by Sphagnum Moss Peat. Process Biochemistry , 30 :293-298

168. SHERMAN L., GLENNON J.A., BRECH W.J., KLOMBERG G.H., GORDEN E.S. (1968): Flaiure of trivalent chromium to improve hyperglycaemia in diabetes mellitus. Metabolism 17:439-442

169. SHIAU S. and CHEN M (1993).: Carbohydrate utilization by Tilapia (Oreochromis niloticus x O. aureus) as influenced by different chromium sources. Am. J. Nutr. 123 : 1747-1753

170. SORENSEN S. C. (1974): The permeability to small ions of tight junctions between cerebral endothelial cells. Brain Res. 70 :174-178

171. STEARNS D.M. (2000): Is chromium a trace essential metal? Biofactors 11:149-162

172. STERN J. J., CUDILLO C A., and KRUPER J. (1976): Ventromedial hypothalamus and short-term feeding suppression in male rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 90: 484-490

173. STOECKER B. (1998): Chromium absorption, safety and toxicity. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

174. SUDO M., MINOKOSHI Y. and SHIMATZU T. (1991): Ventromedial hypothalamic stimulation enhances peripheral glucose uptake in anesthetized rats. Am. J. Physiol. 261: E298-E303

175. SUGA A., HIRANO T., INOUE S., TSUJI M., OSAKA T., NAMBA Y., MIURA M., ADACHI M. (1999):Plasma leptin levels and trygliceride secretion rates in VMH-lesioned obese rats: a role of adiposity. Am. J. Physiol. 276: E650-E657

176. TEITELBAUM P. H., EPSTEIN A. N. (1962): The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions. Psichological Reviews, 69:74-90

177. TROW L.G., LEWIS J., GREENWOOD R.H., SAMPSON M.J., SELF K.A., CREWS H.M., FAIRWEATHER-TAIT S.J. (2000): Lack effect of dietary chromium supplementation on glucose tolerance, plasma insulin and lipoprotein levels in patients with type 2 diabetes. Int. J. Vit. Nutr. Res. 70: 14-18

178. URBERG M., ZEMMEL M.B. (1987):Evidence for synergism between chromium and nicotinic acid in the control of glucose tolerance in elderly humans. Metabolism 36: 896-899

179. VEILLON C. (1998): Analytical issues in chromium research. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

180. VINCENT J. B. (1999): Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. J. Am. Coll. Nutr. 18: 6-12

181 VINCENT J. B. (1998): Mechanism of chromium action. Abstract International Symposium on the Health Effects of Dietary Chromium San Antonio

182/a. VINCENT J. B. (2000): Quest for the molecular mechanism of chromium action and its relationship to diabetes. Nutr. Rev. 58:67-72

182/b. VINCENT J. B. (2000): Elucidating a biological role for chromium at a molecular level. Account of Chemical Research, 33: 503-510

183. VOTAVA H.J., HAHN C.J., EVANS G.W. (1973): Isolation and partial characterization of a $^{51}Cr$ complex from brewer's yeast. Biochem. Biophys. Res. Commun. 55:312-319

184. WANG M.M., FOX E.A., STOECKER B.J., MENENDEZ C.E., CHAN S.B. (1989): Serum cholesterol of adults supplemented with brewer's yeast of chromium chloride. Nutr. Res. 9: 989-998

185. WING-KEONG N.G. and WILSON ROBERT P. (1997): Chromium oxide inclusion in the diet does not affect glucose utilization or chromium retention by channel catfish, Ictaculus punctataus. J. Nutr. 127:2357-2367

186 WISE A. (1978): Chromium supplementation and diabetes JAMA240: 2045-2046

187. YANG J., DAI G., GUO J., YAN B.,CHEN S., CAI S., CAO Z. (1988): The synthesis, animal experiments and preliminary clinical trial of chromium (III)-nicotinicacids mixed ligand complexes. Huaxi Yike Daxue Xuebao 19: 167-169

188. YOON J. C., Pere Puigserver, Guoxunhen, J. Donivan, Zhidan WU, J. Rhee, G. Adelmant, J. Stafford, C D.Kahn, D. K. Granner, C. B. Newgard, B. Spiegelman, M. (2001): Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. Nature 413:131-141

189. YOON J. C., PUIGSERVER P., CHEN G., DONIVAN J., WU Z., RHEE J., ADELMANT G., STAFFORD J., KAHN C. D., GRANNER D. K., NEWGARD , SPIEGELMAN B. M. (2001): Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. Nature 413:131-141

190. YOSHIMOTO S., SAKAMOTO K., WAKABAYASI I., and MASUI H. (1992): Effect of chromium administration on glucose tolerance in stroke-prone spontaneously hypertensive rats with stretozotocin-induced diabetes. Metabolism 41: 636-642

192. YURDAKÖK M., ÖZER D., ERDEM G., TEMIZER A. (1993): Plasma chromium levels in small-for-gestational-age newborn infants. Turkish J. Pediatr. 35 :37-40

193. ZARBIN M. A., INNIS R. B., WAMSLEY J. K., SNYDER S. H., and KUHAR M. J. (1983): Autoradiographic localisation of cholecystokinin receptors in rodent brain. J. Neurosc. 3: 877-906

194. ZHITKOVICH A., VOITKIUN V., and COSTA M. (1996): Formation of the amino acid-DNA complexes by hexavalent and trivalent chromium in vitro: importance of trivalent chromium and the phosphate group. Biochemistry 35 :7275-7282

195. Dr. Halmos Tamás, Dr. Jermendy György: Diabetes mellitus Elmélet és klinikum Szerk.: Medicina Könyvkiadó Rt. Budapest, 2002. alfejezet, oldalszám

# 7. AZ ÉRTEKEZÉSHEZ FELHASZNÁLT SZABADALMAK

1. Eljárás biológiailag aktív krómkomplexet tartalmazó étkezési rostkészítmény előállítására 217 536 lajstromszám, 1996. január 2. Dr. Mózsik Gyula, Dr. Past Tibor, Dr. Szabó Leventéné, Dr. Szabó Levente, Dr. Görög Lászlóné, Dr. Jávor Tibor, Dr. Keszthelyi Zsuzsanna, Dr. Nagy Ágnes

2. Eljárás étkezési rostkészítmények előállítására A 23 L1/308, 1/0534, 1990. február 09. Dr. Jávos Tibor, Dr. Pat Tibor, Dr. Szabó Leventéné, Dr. Koppány Enikő, Dr. Grega Józsefné, Tóth László, Dányi János, Tóth Gábor, Dr. Görög Lászlóné

# 7. SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

## TUDOMÁNYOS DOLGOZATOK (CIKKEK):

1. Development of mother-oriented spatial learning is newborn kittens
   Tamásy, V., Keszthelyi, Zs, Nagy, Z.
   Developmental Psychobiology 23:537-543, 2000
   **IF: 1.286**

2. Trace element content of the hyppocampus and brainstem of developing rats recovering from prenatal protein-energy malnutrition: Effects of vitamin E treatment
   Ajtony, Z., Balatincz, J., Keszthelyi Zs, Tamásy, V.
   In Macro and Trace Elements, Vol.20. (Eds.): M. Anke, W. Arnhold, R., Bitsch, W. Dorn., G. Flachowsky, M. Geli
   Verlag Harald Schubert, Leipzig, 2000

3. Egyenértékű vizsgálatok elvégzésének irányelvei hosszú tartozkodási idejű hatóanyagot tartalmazó készítményekkel
   Past, T., Szabó L., Keszthelyi Zs.
   Magyar Belorvosi Archivum. 52: 99-102. 1999

4. Challenging non complience
   Zs. Keszthelyi , B. Blasszauer
   J Med Ethics. 2003 Aug;29(4):257-9
   **IF: 1,061**

5 A Hypertonia és kezelése
Keszthelyi Zs.
Praxis, 11: 9-16. 2002

6. A króm(III)-ionok szerepe a 2-es tipusú diabetes mellitus kezelésében
Keszthelyi Zs., Past T., Koltai K., Szabó Levente, Mózsik Gyula
Orvosi Hetilap 144. 42: 21-24, 2003

7. Speciális szempontok a metabolikusan érintett iszkémiás szívbetegek kezelésében
Deres Péter dr., Koltai Katalin dr., Keszthelyi Zsuzsanna dr., Tóth Kálmán dr.
Háziorvos Továbbképző Szemle, 8: 503-507, 2003

8. The central effect of chromium on glucose metabolism
Zs. Keszthelyi, T. Past, K. Koltai, B. Lukats, Z. Karády
Pharmacopsychiatry. 37(5):242, 2004
**IF: 1,844**

9. Pulmonary embolisation as primary manifestation of hepatocellular carcinoma with intracardiac penetration. Case report.
Papp, E., Keszthelyi, Zs., Kalmar, N. K., Papp, L., Weninger, CS., Batthyany, I., Tornoczky, T., Kalman, E., Toth, K., Habon, T.
World J. Gastroentero., accepted for publication.
**IF: 3.318**

10. Chromium and selenium enhance cellular glucose utilization in human red blood cells (an in vitro testing method)
Keszthelyi Zs, Past, T., Koltai K.,Szabó, L., Mózsik Gy.
The Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, accepted for publication.
**IF: 0,600**

Idézhető absztraktok

1. The inverse realation between serum phosphate and blood glucose in glucose intolerant patients
   I. Wittmann, Zs. Keszthelyi, L. Czopf, J. Nemes, Gy. Mózsik
   J.Gastroenterol. 1994:32:308
   **IF: 1,199**

2. A króm(III)-ionok és a szelén hatása a glükózmetabolizmusban
   Keszthelyi Zs., Past, T., Szabó, L., Nagy, Á., Mózsik. Gy.
   Diabetológia Hungarica, 1997 (4. évf. Suppl.1) A123

3. A króm(III)-ionok és a szelén hatása a glükózmetabolizmusban
   Keszthelyi Zs., Past, T., Szabó, L., Nagy, Á., Mózsik. Gy.
   Magyar Belorvosi Archivum, 1997 (Suppl 1) 18.

4. A króm(III) ionok szerepe a nem inzulin dependens Diabetes Mellitus kezelésében
   Keszthelyi Zs., Past, T., Szabó, L., Mózsik, Gy.
   Magyar Belorvosi Archivum, 54: (Suppl 1) 2001 38.

5. Variability of Transthoracic Electrical Impedance and Estimated Stroke Volume Index in Young Helthy Volunteers
   László Czopf, Nanetta Bősz, Előd Papp, Tamás Habon, Zsuzsanna Keszthelyi, Kálmán Tóth, Gyula Mózsik
   XIVth World Congress of Cardiology, Sydney, NSW, Australia, May 5-9, 2002
   **IF: 6,374**

6. Artériás és vénás rizikófaktorok kombinációja thrombophiliás családban Tóth O., Dávid M., Habon T., Nagy Á., Vidra T., Meng B., Keszthelyi Zs., Kovács N., Losonczy H.A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának L. Vándorgűlése, Pécs, 2003. Június 26-28-ig. Magyar Belorv. Arch. , 56, Suppl. 2/2002, 113, 2003.

8. Vizsgálati stratégia artériás és vénás thromboembóliás események társulásánál. Tóth O., Dávid M., Habon T., Nagy Á., Vidra T., Meng B., Keszthelyi Zs., Kovács N., Losonczy

H. A Magyar Hematológiai és Transzfúziológiai Társaság XIX. Kongresszusa, Debrecen, 2003. Május 22-24, Magyar Belorv. Arch., 56, Suppl. 1/2003, 68, 2003.

9. Chromium pretreated rats fail to develop diabetes-like symptoms after intrahypothalamic application of streptozotocin
   Koltai K[1], **Keszthelyi Z**[1], Lukács B[2], Karádi Z[2], Past T[1], Mózsik G[1]
   [1]1st Department of Medicine, School of Medicine, Pécs, [2]Institute of Physiology, School of Medicine, Pécs
   Z Gastroenterol 2004; 42: 406, 2004

10. Chromium and selenium enhance the cellular glucose utilization-An in vitro test
    **Keszthelyi Z**, Koltai K, Past T, Mózsik G
    1st Department of Medicine, School of Medicine, Pécs
    Z Gastroenterol 2004; 42: 405, 2004

## SZABADALOM

**1.** Eljárás biológiailag aktív krómkomplexet tartalmazó étkezési rostkészítmény előállítására 217 536 lajstromszám, 1996. január 2. Dr. Mózsik Gyula, Dr. Past Tibor, Dr. Szabó Leventéné, Dr. Szabó Levente, Dr. Görög Lászlóné, Dr. Jávor Tibor, Dr. **Keszthelyi** Zs, Dr. Nagy Ágnes

## OKTATÓ FILM

**1.** Infant-mother relationship: Mother-oriented spatial learning in the neonatal kitten
Tamásy, V., **Keszthelyi** Zs, Z., Nagy, Z., Balikó, L.
(Ed.): Tamásy, V., VHS Video film, „POTE-VIDEO" Pécs, 1992

**2.** Ontogeny of learning ability in kittens
Tamásy, V., **Keszthelyi** Zs, Z., Nagy, Z., Balikó, L.
(Ed.): Tamásy, V., VHS Video Film, „POTE-VIDEO", Pécs, 1992

**Összesített impakt faktor: 8,09**

# 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani igen tisztelt professzoromnak és témavezetőmnek, Dr. Mózsik Gyula egyetemi tanárnak, aki munkámat irányította és sok értékes tanáccsal látott el, továbbá jelenlegi intézetvezető professzoromnak, Dr. Tóth Kálmánnak.

Szeretnék még köszönetet mondani Dr. Past Tibor tanár úrnak a sok segítségért, amit a dolgozatom megírásához nyújtott. Köszönöm a sok kiváló ötletet és útmutatást mellyel hozzájárult dolgozatom elkészítéséhez.

Köszönöm Dr. Karádi Zoltán Tanár Úrnak az állatkísérletes munkám vezetését, segítségét és gondolatébresztő tanácsait. E helyen tartozom köszönettel Dr. Lukáts Balázs Ph.D. doktorandusznak az állatkísérleteknél, a tervezésben és az adatok értékelésében nyújtott nélkülözhetetlen segítségét, az ábrák elkészítését.

Köszönöm Dr. Szabó Leventének a dolgozat ábráinak elkészítéséhez nyújtott kiváló szakmai segítségét.

Köszönettel tartozom Dr. Szabó Leventénének, aki munkám során sok technikai kérdésben segítségemre volt.

Köszönöm Tapasztóné Fazekas Kornéliának segítőkész munkáját.

Köszönettel tartozom még Dr. Koltai Katalin volt TDK hallgatómnak, jelenlegi munkatársamnak, aki kísérletes munkámban nyújtott igen nagy segítségét.