

KRÓNIKUS FÁJDALOM ÉS KOGNITÍV MECHANIZMUSOK VIZSGÁLATA EGÉRMODELLEKBEN

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Szentes Nikolett



Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Vegetatív és szenzoros idegek zsigeri működése és farmakológiája Program

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Pintér Erika

Programvezető: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Témavezetők: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna, Dr. Tékus Valéria

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs, 2021.

I. BEVEZETÉS

A **fájdalom** a Nemzetközi Fájdalomkutató Szövetség meghatározása alapján valódi vagy potenciális szövetkárosodás következtében kialakuló kellemetlen érzéskvalitás. Jellemezhető a **nocicepcióval**, melyet állatkísérletekkel tudunk vizsgálni, valamint affektív komponenssel a fájdalom emocionális megjelenésével, mely csak emberekben vizsgálható (1). A nociceptorok mechanikai, termális vagy kémiai ingerek felfogására specializálódtak, melyek a receptorok érzékenysége alapján lehetnek unimodálisak (termális, mechanikai) vagy polimodálisak (hő, mechanikai, kémiai ingerek). A fájdalom időtartama szerint lehet akut fájdalom, mely hirtelen fellépő, rövid ideig tartó állapot, a szervezet legfontosabb védekező mechanizmusa, valamint krónikus fájdalom, mely a szövetek gyógyulását követően is fennmarad (2,3). Okozhatja sérülés vagy gyulladás, mely érinti a perifériás idegeket vagy a gerincvelőt is. A **neuropátiás fájdalom** idegkárosodás következtében kialakuló, hosszan tartó állapot. Nem fájdalmas inger által kiváltott fokozott érzékenységet **allodíniának**, míg az enyhén fájdalmas inger hatására kialakuló fájdalomérzetet **hiperalgéziának** nevezzük (2). A perifériás nociceptorok kb. 50-70%-át a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés alkották, melyek (4) hármassal funkcióval jellemezhetők: egy klasszikus afferens funkció, amikor az inger hatására a szenzoros idegvégzések a központi idegrendszer felé továbbítják az ingerületet, így alakul ki a nocicepció, vagyis a fájdalomérzet. A második, a lokális efferens funkció, mely során az érzőidegvégződésből szenzoros neuropeptid szabadul fel [kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP) és a tachikininek (substance P (SP) és neurokinin A)], vazodilatációt és plazmafehérje kiáramlást idézve elő. A harmadik, a szisztémás efferens funkció, ekkor az érzőidegvégződésből a gyulladáskeltő neuropeptid mellett fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő neuropeptid (szomatosztatin és a hipofízis-adenilát-cikláz-aktiváló polipeptid) is felszabadulnak (5,6).

Komplex Regionális Fájdalom Szindróma (CRPS)

A CRPS egy krónikus fájdalomállapot, amely általában végtag trauma után alakul ki. Korlátozott végtagok, érzékszervi, autonóm, motoros, bőr- és csontelváltozások jellemzik, azonban a fő tünet a fájdalom és a hiperalgézia (7–9). Kialakulhatnak pszichológiai tünetek (szorongás, depresszió) és alvászavar is. A komplex tünetek miatt integrált interdiszciplináris kezelésre van szükség az egyénre szabva. Az elsődleges a fájdalom csökkentése, a funkció megőrzése vagy helyreállítása és a betegek életminőségének javítása. Még a korai, megfelelő kezelés mellett is nehéz a teljes gyógyulást elérni (10). Két fő típusa van, a valódi idegsérüléssel nem járó CRPS I, illetve a tényleges idegsérüléssel járó CRPS II típus (11). A betegség

patofiziológiája ezidáig ismeretlen, de egyes kutatások szerint szerepet játszhatnak az autoantitestek által mediált immunreakciók, mivel néhány beteg reagál immunglobulin kezelésre (10,12–14). A legtöbb CRPS-ben szenvedő páciens egy hónapon belül javulást mutat kezeléssel vagy anélkül (15), azonban a betegek 20%-ánál tartós fájdalom alakul ki (16). Egyes neuropeptidok (SP, CGRP), valamint a tumor nekrozis faktor alfa (TNF- α) és az interleukin-6 (IL-6) emelkedett szintjét mutatták ki CRPS mintákból (9,17). Kapszaicin injekcióval vagy elektromos stimulációval kiváltott szenzoros neuropeptid felszabadulás stimulálja a gyulladásgátló citokinek, mint a tumor nekrozis faktor (TNF), az interleukin-1 (IL-1) és az IL-6, valamint az idegi eredetű növekedési faktor termelését a patkányok bőrében (18). A CRPS neuropátiás mechanizmusok által közvetített fájdalomállapot, amelynek kialakulásában mikroglia és asztrocita aktiváció, neuroinflammáció és központi idegrendszeri szenzitizáció játszik szerepet (19,20), ezáltal a neuroplasztikus hatások változást okoznak az érzékszervi és motoros funkciókban is. A központi neurofiziológia folyamatok a perifériás gyulladással együtt neurogén gyulladást váltanak ki (21–23). A perifériás sérülés miatt a gyulladással kapcsolatos citokinek túlzott expressziója következik be (24) és neuropátiás fájdalom alakul ki, valamint vazoaktív neuropeptidok (CGRP, SP) is felszabadulnak. Kimutatható a gátló interneuronok csökkent aktivitása a gerincvelő hátsó szarvában (8). Transzkriptomikai elemzéssel patkány krónikus posztisztkémiás fájdalom modellben vizsgálták hátsó gyöki ganglion (DRG) mintákból a neuroinflammáció potenciális szerepét. Azonosították a legfontosabb mediátorokat, jelátviteli utakat és potenciális új fájdalomcsillapító célpontokat (25). A DRG-k kóreltani változásai befolyásolhatják a krónikus fájdalmak, köztük a CRPS kialakulását, ezáltal a DRG stimulálás hatékony módszer lehet a fájdalomcsillapításra (26). A neuroinflammációs mechanizmusok további vizsgálata hozzájárulhat a CRPS mechanizmusainak jobb megértéséhez, valamint új terápiás célpontok azonosításához. Kutatócsoportunk a Liverpooi Egyetemmel (Department of Translational Medicine, University of Liverpool, The Walton Centre NHS Foundation Trust, Liverpool) kollaborációban korábban kidolgozott egy CRPS passzív transzfer-trauma egérmodellt, és vizsgáltuk annak transzlációs jelentőségét. Sikertelenül kiváltani a betegségre jellemző főbb tüneteket (fájdalom, hiperalgésia, ödéma) kis talpi bemetszést követően a CRPS betegekben nyert tisztított immunglobulin G (IgG) frakció napi adásával (27,28). A transzlációs állatmodellek alkalmazása elősegítheti ezen patofiziológiai mechanizmusok feltérképezését, és hozzájárulhat a hatékony terápiák kidolgozásához. Azonosíthatóak a fájdalom kialakulásában szerepet játszó szignalizációs útvonalak molekuláris mechanizmusai és funkciói, ezáltal ígéretes lehetőségeket nyújthatnak új támadáspontú vegyületek fejlesztésekor (29,30).

Új típusú analgetikumok fejlesztésének szükségessége

A krónikus, neuropátiás komponenseket is tartalmazó fájdalomállapotok kezelésére a jelenleg forgalomban lévő fájdalomcsillapítók (nem szteroid gyulladáscsökkentők (NSAID), opioidok) számos esetben nem hatékonyak és/vagy a széles körű, súlyos mellékhatások miatt nem lehet hosszú távon alkalmazni (31). A CRPS-ben számos gyógyszert használnak a fájdalom és gyulladás csökkentésére, valamint a funkcionális állapot javítására, mint az NSAID-ok, a kortikoszteroidok, az antiepileptikumok, az antidepresszánsok, az opioidok, a biszfoszfonátok és a kalciumcsatorna blokkolók (32). CRPS betegek életminőség és az érintett végtag funkcionális képessége javult a prednizolon kezeléssel traumás sérülést követően, és megakadályozta a betegség krónikus fázisba lépését (33,34). A gerincvelő stimulátor beültetésével, elektromos impulzusokat alkalmazva, a betegek mintegy 50%-ánál csökkenti a fájdalmat (35). A CRPS megfelelő terápiája a többféle gyógyszerhasználaton és a korai fizioterápián alapul (36). A betegek egy részénél a plazmaferézis hatékony lehet, amely az autoimmunitás jelentős szerepét támasztja alá (10,12–14). A CRPS igazi terápiás kihívást jelent a fájdalomcsillapításban, ahol új típusú analgetikumok szükségesek (35).

A szomatosztatin 4 (SST₄) receptor ígéretes gyógyszer-célpont lehet (37–40), mely fájdalomcsillapító, gyulladáscsökkentő és antidepresszáns hatásokkal rendelkezik. Kis molekulájú SST₄ agonisták fejlesztése számos gyógyszeripari vállalat érdeklődési körébe került (41,42). Potenciális gyógyszerjelöltek lehetnek olyan új fájdalomcsillapítóként, melyek egyidejűleg antidepresszáns hatással is rendelkeznek (43). Orálisan adott új SST₄ agonisták erős antihiperalgetikus hatást fejtettek ki krónikus neuropátia modellben (41). Az SST₄ receptor szerepet játszhat szenzoros és motoros funkciókban (44), stressz reakciókban, tanulási folyamatokban (45), hangulatszabályozásban (46,47), kognitív teljesítményben és a neurodegeneratív folyamatokban (48). A gyógyszerfejlesztés szempontjából fontos az SST₄ receptor komplex központi idegrendszeri funkcióinak tisztázása.

Szomatosztatin és receptorai: fókuszban a SST₄ receptor

A szomatosztatin egy 14 vagy 28 aminosavból álló peptid a perifériás és központi idegrendszerben, valamint a szervezet számos területén (49–52). Széles spektrumú gátló neurotranszmitter, melynek komplex hatása van a központi idegrendszerben (45,53,54), valamint a periférián auto-, para- vagy endokrin hatásokat közvetít (55,56). A szomatosztatin a fájdalmat és hangulatot szabályzó agyi régiókban expresszálódik, főként a hátsó-oldalsó prefrontális, a cinguláris kéregben és az amigdalában (57–59). Számos serkentő és gátló neurotranszmitter (szerotonin, acetilkolin, glutamát és gamma-aminovajsav) felszabadulását gátolja (60). Kutatócsoportunk már korábban bizonyította az aktivált kapszaicin-érzékeny

peptiderg szenzoros idegekből felszabadult szomatosztatin szisztémás gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatását a periférián, melyet „szenzokrin” funkciónak hívnak (38,61). A szomatosztatin számos neurológiai betegségben is szerepet játszik, mint az Alzheimer- és Huntington-kórban (62), valamint epilepsziában is (63).

Öt szomatosztatin receptor gént klónoztak különféle fajokból, melyek G-proteinhez kapcsolt receptor szupercsalád tagjai és feltételezték, hogy membrán-glikoproteinek, amelyek hét α -spirális transzmembrán domént tartalmaznak. Az *SSTR4* expressziója alapján jelen van a viselkedéssel, megismeréssel és memóriával kapcsolatos agyi területeken, mint a hippokampuszban és a striátumban (64–67). A SST_4 receptor ígéretes célpont lehet a neurogén gyulladás, neuropátiás fájdalom és depresszió gátlására (11,43,68,69).

Öregedés és a szomatosztatin közti összefüggés

Az öregedés jelentősen befolyásolja a kognitív funkciókat, a memóriát és a tanulást. A kognitív károsodás és memória romlásának lassítása vagy megakadályozása a gyógyszerfejlesztés középpontjában áll (54). A szomatosztatin mRNS szintje a nőstény Wistar patkányok striátumában, a frontális és a parietális kérgében szignifikánsan csökken az öregedéssel (70). A szomatosztatin potenciális védő szerepet játszhat az Alzheimer-kór és a kognitív károsodás kialakulásában (48). Neurodegenerációs egérmódelben szomatosztatin agonistákat javítják a memória funkciót, valamint a hosszú és rövid távú memóriát (65,71). Az öregedés mellett a nemi különbségek és a kognitív teljesítmény (72) is fontos tényező a preklinikai modellekben. A szomatosztatin által szabályozott növekedési hormon termelő sejtek száma csökken az életkorral (73–75).

Tanulás és memória

A **tanulás** folyamata az ismeretek és készségek elsajátítását jelenti, eredményeként alakulnak ki például szokásaink, attitűdjeink és tudásunk. A **memória** a szervezet információ feldolgozó képessége, melyben résztvevő fő agyterületek az amigdala, a hippokampusz, a kisagy és a prefrontális kéreg (76). Három típusát különböztetjük meg: a rövid és hosszú távú, valamint a munka memóriát. A rágcsálókban a viselkedési és a megismerési tesztek (77–79) alkalmasak az agy öregedési folyamatának és a neurodegeneratív betegségek feltérképezésére (48). A leggyakrabban használt kognitív tesztek a térbeli memória vizsgálatára a Morris vízi labirintus, többkaros útvesztő (RAM) és Y-útvesztő, valamint az új tárgy felismerési (NOR) és a félelem kondicionálására alkalmas tesztek.

II. ÁLTALÁNOS CÉLKITŰZÉS

1. Az általunk korábban kidolgozott új CRPS transzlációs egérmodellben a betegekből származó plazma IgG frakciók egérbe injektálása után kis talpi bemetszést követően a perifériás és központi idegrendszeri patofiziológiai mechanizmusok feltérképezése.
 - 1.1. Funkcionális változások (nocicepció, ödéma) vizsgálata
 - 1.2. Perifériás vaszkuláris és sejtgyulladásos mechanizmusok meghatározása (optikai képalkotás és citokin vizsgálatok)
 - 1.3. Központi idegrendszeri neuroinflammációs folyamatok (gliasejt aktiváció vizsgálata)
 - 1.4. A hátsó gyöki ganglionok transzkriptomikai vizsgálata
 - 1.5. Az azonosított kórélettani folyamatok validálása génhiányos egerekkel és farmakológia módszerekkel, új farmakoterápiás lehetőségek meghatározása
2. A munkacsoportunk kutatási középpontjában álló új fájdalomcsillapító célmolekula, a szomatosztatin 4 receptor, szerepének vizsgálata egérben a spontán lokomotoros aktivitásra és kognitív folyamatokra a tanulás és memória (új útkereső magatartás, a munka és referencia memória), valamint a felfedező tesztekben (új tárgy felismerése) különös tekintettel az öregedésre és a nemek közti különbségre.

III. MÓDSZEREK ÉS EREDMÉNYEK

Neuroinflammációs mechanizmusok szerepének vizsgálata a CRPS passzív transzfer-trauma egérmodelljében

Kísérleti protokoll

A kísérleteinket C57BL/6J, valamint mikroglia specifikus *IL-1 β* kondicionális KO és *IL-1 $\alpha\beta$* KO nőstény egerekkel végeztük. A szoktatás és kontroll mérések után a kísérlet 0. napján talpbőr-izom incíziót végeztünk, mely során egy 0,5 cm hosszú vágást ejtettünk az egerek jobb hátsó talpának közepén (27,28). Kollaborációs partnerünk Dr. Andreas Goebel (*University of Liverpool, United Kingdom*) biztosította a tisztított IgG frakciót olyan betegektől, akiknek a kiindulási fájdalomintenzitásuk egy 11 pontos numerikus értékelési skálán 7/10 volt (ahol a 0=nincs fájdalom, 10=elviselhető legnagyobb fájdalom). Intraperitoneálisan (i.p.) minden nap kezeltük az egereket CRPS vagy egészséges IgG szérummal, és a kontroll csoport fiziológiás sóoldatot kapott. Egyes kísérletekben az IgG kezelést kiegészítettük prednizolon (4 mg/kg i.p.), IL-1 antagonistá anakinra (10 mg/kg i.p.), szolubilis tumor nekrozis faktor etanercept (5 mg/kg i.p.) vagy Janus kináz inhibitor tofacitinib (30 mg/kg *subcutan*) adásával. Mértük a mechanikai fájdalomküszöböt dinamikus plantáris észteziométerrel, az ödéma mértékét pletizmométerrel és a MPO enzimaktivitást *in vivo* képalpalkotással. Az kísérlet utolsó napján (3, 6 vagy 14 nap) az állatokat ketamin-xilazinnal (100 mg/kg és 5 mg/kg i.p.) altattunk. A plazmákat és a lábakat -80 °C-on tároltuk a későbbi neuropeptid és citokin koncentráció meghatározásig. Az egereket transzkardiálisan perfundáltuk 4% paraformaldehid oldattal, majd eltávolítottuk az agyat és a gerincvelőt a későbbi asztocita és mikroglia sejtaktiváció immunhisztokémiai vizsgálatáig (28). Az asztocita és mikroglia immunpozitivitását a sejtsűrűség meghatározásával vizsgáltuk a L4-L6 gerincvelő hátsó szarvából (I-II réteg) és a mélyebb rétegekből, valamint az agy periakveduktális szürke állomány (PAG) és szomatoszenzoros kéreg (SSC) területeiről.

A transzkriptomikai elemzés során a mechanikai fájdalomküszöböt az 1., 3., 4. és az 5. napokon mértük. A kísérlet utolsó napján izoláltuk az L4-L6 DRG mintákat, folyékony nitrogénben fagyasztottuk, majd az ribonukleinsav (RNS) kivonásig -80 °C-on tároltuk. Az RNS szekvenálást követően transzkriptomikai elemzést végeztünk.

CRPS betegek IgG-je fokozza a talpsérülés okozta mechanikai hiperalgéziát egerekben

A talp bemetszést követő napra a sérült lábban 45-50%-os mechanonociceptív küszöbesökkenés alakult ki mindhárom kezelési csoportban, majd a további napokon enyhe, nem szignifikáns mechanikai hiperalgézia maradt fenn a fiziológiás sóoldattal és az egészséges

IgG-vel kezelt állatokban. A CRPS IgG megnövelte a kialakult mechanikai hiperalgéria mértékét az egészséges IgG-vel kezeltékhez képest, mely a kísérlet késői fázisában tovább fokozódott. A műtét utáni napra egy 30%-os térfogat növekedés alakult ki az érintett végtagon mindhárom kezelési csoportban. A kialakult ödéma a CRPS IgG-vel kezelt csoportban a kísérlet végéig szignifikánsan nagyobb volt, míg az egészséges IgG és a fiziológias sóoldattal kezelt csoportokban 1-2 napon belül normalizálódott.

A DRG-k transzkriptomikai elemzéséhez végzett mechanikai fájdalomküszöb méréskor a CRPS IgG hatására szintén kialakult egy 45-50%-os mechanikai fájdalomküszöb-csökkenés az incízió utáni 5. nap. A CRPS IgG napi, ismételt adása szignifikánsan fenntartotta a mechanonociceptív küszöb-csökkenést az egészséges IgG-vel kezeltékhez képest.

CRPS IgG fokozza a korai fázisban a neutrofil mieloperoxidáz aktivitást egerekben

Az L-012 kemilumineszcenciás *in vivo* képalkotással a neutrofil mieloperoxidáz (MPO) által a neutrofilekben és makrofágokban a reaktív oxigén és nitrogén gyökök termelődését mértük. A talp bemetszés következtében megnövekedett MPO aktivitás szignifikánsan fokozódott a CRPS IgG-vel kezelt állatokban 2 nappal a sérülés után. A plazma extravazációt jelző fluoreszcens képalkotással ebben az időpontban nem találtunk különbséget a vizsgált csoportok között.

CRPS IgG nem befolyásolja a perifériás gyulladási mediátorok termelődését

A gyulladási változások értékelésére a SP és CGRP koncentrációit radioimmunoassay-el mértük hátsó láb homogenizátumokból, valamint az IL-6, TNF- α , MCP-1 és IL-1 β koncentrációit ugyanazokból a mintákból származó multiplex mikroyöngy mátrix technikával. Korábbi eredményekhez hasonlóan (27) az SP szintje nőtt a sérült lábban a 6. napra a CRPS IgG-vel kezelt csoportban, míg a CGRP szintje nem változott szignifikánsan. A sérült lábak esetében ugyan szignifikánsan fokozódott a gyulladási mediátorok szintje az intakt oldalhoz képest, azonban a különbség az idő előrehaladtával fokozatos csökkenést mutatott, és a kezelési csoportok között sem volt különbség. Az incízió után 13 nappal a legtöbb mediátor már nem volt kimutatható, annak ellenére, hogy a hiperalgéria ekkor volt a legnagyobb. A plazma citokin koncentrációiban nem volt szignifikáns különbség.

CRPS IgG fokozza a gliasejt-aktivációt a fájdalommal kapcsolatos központi idegrendszeri területeken

Az asztrocita és a mikroglia sejtek számát a gerincvelő L4-L6 hátsó szarvában (I-II réteg) és a mélyebb rétegekben értékeltük az incízió utáni 3, 6 és 13 napon. A gliális fibrilláris savas fehérje (GFAP) immunpozitivitást az 6. napon, az ionizált Ca-kötő adaptor molekula 1 (Iba1) immunpozitivitást pedig a 13. napon értékeltük. Az asztrociták száma a korai időszakban (3. és 6. nap), míg a mikroglia sejtszám az egész kísérleti idő alatt (13. napig) fokozódott a CRPS

IgG-vel kezelték. A modellben tehát átmeneti asztrocita és tartós mikroglia aktivációt figyeltünk meg.

CRPS IgG neuroinflammációval kapcsolatos génexpressziós változásokat eredményez talp sérülés után az egerek hátsó gyöki ganglionjában

A transzkriptomikai elemzés során 125 differenciáltan expresszált (DE) gén csoportosulását mutatja a hőterkép a CRPS és egészséges IgG-vel kezelt egerek sérült oldali DRG mintáit összehasonlítva. A hőterképen a kezelt minták a két csoportnak megfelelően jól elkülönültek. 48 gén up-regulálódott és 77 gén down-regulálódott a CRPS IgG-vel kezelt DRG-mintákban. Ezek közül kiválasztottunk 12 up- és 12 down-regulálódott gént a p-érték alapján, melyek szerepet játszhatnak a CRPS-ben, és meghatároztuk ezen gének által kódolt fehérjék sejten belüli lokalizációját és potenciális funkcióit. A *Ranked list enrichment*/KEGG adatbázis magába foglalta a citokin-citokin receptor kölcsönhatást, a Gén ontológia (GO) adatbázis pedig a citokin aktivitást, a neuropeptid receptor, a feszültség függő csatorna aktivitást, a leukocita kemotaxist, és még sok más folyamatot. A DE gének lista/GO adatbázis alapján a peptidáz szabályozás és a gyulladási válasz pozitív szabályozása is a feltételezett mechanizmusok között volt. A transzkriptomikai vizsgálatban a TNF és a Janus kináz-szignál transzducer és transzkripció aktivátor (JAK-STAT) jelátviteli útvonalakat azonosítottuk génexpressziós szinten CRPS IgG-vel kezelt DRG mintáikat összehasonlítva az egészséges IgG-vel. A CRPS IgG neuroinflammációs változásokat idézett elő a DRG-ben, amelyben a TNF és a JAK-STAT jelátvitel aktiválása kulcsszerepet játszott.

TNF és Janus kináz (JAK) szignalizáció gátlása csökkenti a CRPS IgG-vel kiváltott mechanikai hiperalgéria-fokozódást

A talpbőr-izom incíziót követő napon minden csoportban 37-49% mechanikai fájdalomküszöb-csökkenést mértünk. A CRPS IgG kezelt csoportban szignifikánsan nagyobb volt a mechanikai hiperalgéria az egészséges IgG-vel injektált egerekhez képest ($38,8 \pm 4\%$ vs. $15,3 \pm 7,3\%$ a kísérlet 3. napján; $29,4 \pm 7,5\%$ vs. $5,5 \pm 4,9\%$ a kísérlet 7. napján). A JAK inhibitor **tofacitinib** (30 mg/kg *subcutan*) napi kétszeri adása, valamint a szolubilis TNF receptor **etanercept** (5 mg/kg i.p.) napi alkalmazása szignifikánsan enyhítette a CRPS hatására kialakult mechanikai hiperalgériát. Az incízió utáni napra 27-35%-os lábduzzadás alakult ki mindegyik csoportban, mely a kísérlet végére normalizálódott. A CRPS IgG kezelés nem befolyásolta az ödéma mértékét tekintve, hogy a mintát szolgáltató CRPS betegnél a mintavétel idején nem állt fent végtag duzzadás. A CRPS IgG hatására szignifikánsan emelkedett GFAP immunaktivitás a gerincvelő hátsó szarvában, a PAG-ban és az SSC-ben az egészséges IgG-vel kezeltékhez képest a 7. napra. Az etanercept kezelés csökkentette a gerincvelő hátsó szarvában a GFAP

pozitív sejtek számát. Az etanercept és a tofacitinib kezelés a PAG-ban és az SSC-ben is csökkentette sejtaktivációt. Az Iba1 fehérje expresszió növekedett a gerincvelő hátsó szarvában a CRPS-el kezelt állatokban, melyet az etanercept kezelés kis mértékben, a tofacitinib azonban szignifikánsan csökkentett. A PAG-ban a CRPS IgG hatására megnövekedett Iba1 immunpozitivitást az etanercept és tofacitinib is enyhítette.

Az IL-1 kiütése és receptorának blokkolás megakadályozza a CRPS-hez kapcsolódó hiperalgéziát és gliózist

A glükokortikoid **prednizolon** (4 mg/kg i.p./nap), és az interleukin-1 receptor antagonist **anakinra** (10 mg/kg i.p./nap) hatásait vizsgáltuk a CRPS IgG által kiváltott tünetekre és a gyulladásos változásokra. A műtétet követő napon a mechanikai hiperalgézia egyformán kialakult minden kezelési csoportban. A 2. és 3. napon a glükokortikoid kezelés átmenetileg csökkentette a CRPS IgG által kiváltott mechanikai hiperalgéziát, de ez a hatás a 7. napra már nem volt kimutatható. Az anakinra kezelés megakadályozta a CRPS IgG hatásának kialakulását és szinte teljesen megfordította a gliosejtek aktiválódását a gerincvelő hátsó szarvában a kísérlet 6. napjára a sérült oldalon. A prednizolon kezelés nem okozott ilyen változásokat. Ezenkívül az anakinra késleltetett adása (8. naptól kezdve) csökkentette a CRPS IgG hatására kialakult mechanikai hiperalgéziát, és a fokozott mikroglia aktivációt is a gerincvelői hátsó szarvban a 13. napra. A perifériás mediátorok szintjét tekintve az anakinra a 3. napon csak az MCP-1 szintjét csökkentette.

A CRPS IgG-t kapott *IL-1 α* KO egerek esetében csak enyhe mechanikai hiperalgézia alakult ki, valamint az incízió után is kevésbé tapasztaltuk a láb duzzadását. *IL-1 β* flox-olt (fl/fl) egereket hoztunk létre annak megállapítására, hogy a megnövekedett mikroglia IL-1 β hatással van e a CRPS során kialakult fokozott mechanikai hiperalgéziára. A mikroglia IL-1 β eliminációja szignifikánsan csökkentette a mechanikai hiperalgéziát és a talp ödémát a CRPS IgG-vel kezeltékben, bár ez a hatás kisebb volt, mint az *IL-1 α* KO egerekben. Az Iba1 aktivációja csökkent az *IL-1 α* KO egerekben, de a mikroglia *IL-1 β* KO-k esetében nem változott a CRPS IgG hatására. Míg a mikroglia *IL-1 β* sejtek fontos részei a tartós fájdalomhoz kapcsolódó krónikus neuroinflammációnak, addig más IL-1 β -termelő sejtek vagy az IL-1 α által közvetített folyamatok is hozzájárulhatnak a CRPS tüneteikhez.

SST₄ receptor szerepének vizsgálata tanulás és memória egérmodelljeiben

Kísérleti protokoll

A tanulás és memória tesztekhez hím és nőstény *Sstr4* génhianyos (39,43,80) és vad típusú egereket használtuk különböző életkorban (3, 12, 17 hónap). Az eredeti *Sstr4* heterozigóta (*Sstr4*^{+/-}) tenyészpárokat Prof. Dr. Pierce C. Empson kutatócsoportja (*Laboratory of Molecular Neuroscience, The Babraham Institute, Babraham Research Campus, United Kingdom*) biztosította számunkra.

Módszerek

Az Y-útvesztő (*Y-maze*) egy egyszeresen elágazó labirintus teszt, amely a rágcsálók térbeli memória és útvonal-tanulási képességeinek vizsgálatára alkalmas (81,82).

A többkaros útvesztő (*Radial arm maze - RAM*) egy 8 karos útvesztő, mely alkalmas a munkamemória és a hosszú távú (referencia) memória vizsgálatára (83,84). A mérés során 4 kiválasztott karba jutalomfalatot helyeztünk és a mérés addig tartott, amíg az állat mind a 4 pelletet meg nem találta, vagy le nem járt a mérés idő (85).

Az új tárgy felismerési (*Novel object recognition - NOR*) tesztet széles körben használják a felfedező viselkedés és emlékezési folyamatok vizsgálatára (86). Egy felül nyitott tetejű (*Open field - OF*) dobozban detektáltuk az egerek spontán lokomotoros aktivitást és a szorongást (43,87,88). A tárgyak behelyezését követően az OF dobozba vizsgáltuk, hogy az egerek mennyi időt töltenek az ismerős és az új tárgy felfedezésével és ezek arányából meghatároztuk a rekogníciós indexet (89).

***Sstr4* hiánya nincs hatással a térbeli memóriára, amely az életkorral csökken**

Az Y-útvesztőben a fiatal hím és nőstény, WT és *Sstr4* KO egerek szignifikánsan több kart látogattak, mint idősebb társaik. A 17 hónapos WT nőstényeknél csökkent az új útkereső magatartás KO és hím társaikhoz képest. Az SST₄ receptor hiánya nem befolyásolta az egerek viselkedését egyik csoportban sem.

***Sstr4* hiánya és az öregedés rontja a nőstény egerek felfedező aktivitását, amely korlátozza a munkamemória megítélését**

A RAM tesztben a fiatal *Sstr4* KO nőstény egerek látogatták, ismételték és tévesztettek szignifikánsan kevesebb kart, mint a WT társaik. A nemek közti különbségben a fiatal nőstények ismételték szignifikánsan több kart, és több kart is látogattak, mint a hímek, bár ez a paraméter nem volt szignifikáns. A fiatal hím és nőstény WT egerek látogattak, ismételték és tévesztettek több kart, és több jutalomfalatot találtak meg, mint az idősebb társaik. Az öregedés és az SST₄ receptor hiánya is szignifikánsan javította a nőstények munkamemóriáját, a hím

egerek esetében azonban nem. Az idős WT hím egerek referencia memóriája, míg a fiatalok munkamemóriája javult a korban megegyező nőstény kontrollokhoz képest.

Az öregedéssel csökken a spontán lokomotoros aktivitás és növekszik a szorongási szint mindkét nemben és genotípusban

Az OF tesztben 12 és 17 hónapos egerek mindkét nem és genotípus esetében szignifikánsan kevesebbet mozogtak és kevesebb időt töltöttek az OF doboz közepén. A fiatal WT csoportban a nőstények szignifikánsan több időt töltöttek az OF doboz közepén, mint a velük megegyező korú hímek.

Csökken a felfedező viselkedés az *Sstr4* génhányos fiatal és öreg egerekben

A NOR tesztben a fiatal hím *Sstr4* KO egerek szignifikánsan kevesebb időt töltöttek, mind az ismerős, mind az új tárgyak felfedezésével, mint a WT társaik. A fiatal hímek szignifikánsan többet érdeklődtek a tárgyak felfedezése iránt, mint a nőstény és idősebb társaik. Az 12 és 17 hónapos egerek nemtől és genotípustól függetlenül kevésbé voltak érdeklődők.

IV. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. CRPS betegetől származó IgG ismételt szisztémás injekciója egerekben kis talpi bemetszést követően szignifikáns mechanikai hiperagézia fokozódást váltott ki perifériás gyulladáshoz jelek nélkül, azonban a gerincvelői hátsó szarvban és a fájdalom feldolgozásban szerepet játszó PAG-ban és SSC-ben gliassejt aktivációt (neuroinflammációt) eredményezett. A neuroinflammációs mechanizmusokban bizonyítottuk az elsősorban mikroglia eredetű IL-1 β szerepét.
2. Ebben az új, transzlációs jelentőségű passzív transzfer-trauma CRPS egérmódelünkben a hátsó gyöki ganglionok hipotézismentes transzkriptomikai vizsgálatával a primer szenzoros neuronokban neuroinflammációs mechanizmusokat és gyulladáshoz citokin szignallizációval kapcsolatos folyamatokat azonosítottunk.
3. A glükokortikoid prednizolon csak a korai fázisban, azonban IL-1 receptor antagonistáknak, a szolubilis TNF receptor etanercept és a JAK-STAT jelátvitel gátló tofacitinib kivédte a CRPS IgG-vel kiváltott hiperagézia fokozódást és gliasejt aktivációt a kísérlet teljes időtartama alatt.
4. Egérkísérleteinkben igazoltuk, hogy a spontán lokomotoros aktivitás, a felfedező magatartás és a térbeli memória funkció az életkor előrehaladtával csökkent. Érdekes nemi különbségeket tapasztaltunk az életkor függvényében: a fiatal nőstények aktívabbak voltak, mint a hímek a spontán motoros aktivitásban, azonban gyengébb felfedező magatartást mutattak az új tárgyfelismerési tesztben. A legidősebb nőstények térbeli memória funkciója rosszabb volt, mint a hímeké. Az új fájdalomcsillapító célmolekula, az SST₄ receptor, hiánya csak fiatal nőstény egerekben csökkentette a spontán lokomotoros aktivitást, míg a fiatal hímeknél a felfedező magatartást (új tárgy felismerés).

V. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az általunk kidolgozott, jellemzett és farmakológiai eszközökkel validált új CRPS passzív transzfer-trauma transzlációs egérmódellemel hasznos a betegség kórleletani folyamatainak azonosítására. A hátsó gyöki ganglionok hipotézismentes transzkriptomikai vizsgálata alkalmas megközelítés a primer szenzoros neuronok szintjén szerepet játszó fájdalom érzékenyítő mechanizmusainak meghatározására.
2. CRPS-hez kapcsolódó krónikus fájdalomban nem a perifériás gyulladás, hanem a szenzoros ganglionokban és a központi idegrendszerben zajló neuroinflammációs mechanizmusok (perifériás és centrális szenzitizáció) játszanak döntő szerepet a gyulladásos citokin jelátvitelen keresztül.
3. Az IL-1, TNF és JAK-STAT szignalizációs útvonalak gátlása új fájdalomcsillapító lehetőséget jelenthet, többek közt más indikációval (elsősorban reumatoid arthritisz kezelésére) forgalomban lévő gyógyszerek (anakinra, etanercept, tofacitinib) alkalmazhatóságának bővítésével.
4. Az új fájdalomcsillapító és antidepresszáns célpontnak tartott SST₄ receptor valószínűleg nem befolyásolja a spontán lokomotoros aktivitást és a tanulási képességet az öregedéssel összefüggésben sem, nemi különbségek nélkül, amely SST₄ agonista gyógyszerjelöltek kedvező mellékhatás spektrumára utalhat.

VI. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretném hálás köszönetemet kifejezni témavezetőimnek, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának és Dr. Tékus Valériának a sok támogatásért és a kiváló kutatóként mutatott szakmai segítségükért, melyben már egészen a Mester képzésemtől kezdve, a TDK, majd végül PhD képzésem folyamán részesültem. Köszönettel tartozom intézetvezetőnknek, és egyben a Doktori Iskola vezetőjének Prof. Dr. Pintér Erikának, hogy támogatta a kutatómunkám, továbbá, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannával együtt, a folyamatos fejlődésemet és a lehetőséget, hogy továbbtanulási terveim megvalósulhattak. Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Andreas Goebel kollaborációs partnerünknek, a Liverpooli Egyetem Fájdalom Központ által, hogy részt vehettem a Komplex Regionális Fájdalom Szindróma vizsgálatában, és hogy az egész kutatómunkám során értékes szakmai segítséggel és tanácsokkal látott el. Továbbá Serena Sensi liverpool-i Egyetem PhD hallgatójának, aki a szakmai és technikai segítséggel hozzájárult munkám kivitelezéséhez. Hálás köszönettel tartozom Dr. Bölcskei Katának és Öböli Dórának, hogy a kezdetektől fogva mindenben segítettek a fejlődésemet és megtanították, a kísérletes munka során elengedhetetlen, precíz és szakszerű munkavégzést. Köszönöm továbbá Rajnai Tündének, Öböli Dórának és Draskóczy Lillának, hogy nemcsak a munkában nyújtott segítséggel, de barátságukkal is támogattak. Köszönöm a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben dolgozó kollégáimnak, Dr. Aczél Timeának, Dr. Borbély Évának, Dr. Horváth Ádám Istvánnak, Dr. Kun Józsefnek, Dr. Pohóczky Krisztinának, Dr. Szőke Évának, Kiss Tamásnak és Nemes Balázsnak a kutatómunkám során nyújtott szakmai és technikai segítséget, valamint az intézet minden dolgozójának, hogy egy emberileg is jó közösségbe tartozhatom. Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Dénes Ádámnak és Dr. Gyenesei Attilának, valamint kutatócsoportjaiknak a munkám során nyújtott szakmai és technikai segítséget. Köszönet Bagoly Teréz, Fábíán Ildikó, Perkecz Anikó kolléganőimnek a professzionális asszisztensi munkáért, mellyel hozzájárultak a kísérletek sikerességéhez. Végül szeretném megköszönni Családomnak és Vőlegényemnek, hogy támogatták tanulmányaimat és a munkámat, valamint a rengeteg bátorítást és szeretetet, mellyel ösztönöztek a legjobb eredmények elérésére.

Támogatások: National Brain Research Program: 2017-1.2.1-NKP-2017-00002; GINOP-2.3.2-15-2016-00050 „PEPSYS”; EFOP-3.6.1-16-2016-00004, EFOP-3.6.2-16-2017-00006; EFOP 3.6.2-17-2017-00008 N (2017-2019), EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017- 00009, FIKPII-17886-4/23018/FEKUTSTRAT; PTE ÁOK Dr. Szolcsányi János Kutatási Alap: PTE ÁOK_KA-2020-18, Felsőoktatási hallgatók tudományos műhelyeinek és programjainak támogatása: EFOP-3.6.3-VEKOP -16-2017-00009.

VII. IRODALOMJEGYZÉK

1. Treede R-D. The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *PR9*. 2018. március;3(2):e643.
2. Merskey H, Bogduk N, International Association for the Study of Pain, szerkesztő. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. 2nd ed. Seattle: IASP Press; 1994. 222 o.
3. Patetsos E, Horjales-Araujo E. Treating Chronic Pain with SSRIs: What Do We Know? *Pain Research and Management*. 2016;2016:1–17.
4. Holzer P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol Rev*. 1991. június;43(2):143–201.
5. Szolcsányi J, Helyes Z, Oroszi G, Németh J, Pintér E. Release of somatostatin and its role in the mediation of the anti-inflammatory effect induced by antidromic stimulation of sensory fibres of rat sciatic nerve. *Br J Pharmacol*. 1998. március;123(5):936–42.
6. Szolcsányi J, Pintér E, Helyes Z, Oroszi G, Németh J. Systemic anti-inflammatory effect induced by counter-irritation through a local release of somatostatin from nociceptors: Anti-inflammatory effect of counter-irritation. *British Journal of Pharmacology*. 1998. október;125(4):916–22.
7. Birklein F, Riedl B, Claus D, Neundörfer B, Handwerker HO. Cutaneous norepinephrine application in complex regional pain syndrome. *European Journal of Pain*. 1997. június;1(2):123–32.
8. Birklein F, Schmelz M. Neuropeptides, neurogenic inflammation and complex regional pain syndrome (CRPS). *Neuroscience Letters*. 2008. június;437(3):199–202.
9. Weber M, Birklein F, Neundörfer B, Schmelz M. Facilitated neurogenic inflammation in complex regional pain syndrome. 2001;7.
10. Goebel A. Complex regional pain syndrome in adults. *Rheumatology*. 2011. október 1.;50(10):1739–50.
11. Blaes F, Tschernatsch M, Braeu ME, Matz O, Schmitz K, Nascimento D, és mtsai. Autoimmunity in Complex-Regional Pain Syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007. június 1.;1107(1):168–73.
12. Goebel A. Intravenous Immunoglobulin Treatment of the Complex Regional Pain Syndrome: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2010. február 2.;152(3):152.
13. Kohr D, Singh P, Tschernatsch M, Kaps M, Pouokam E, Diener M, és mtsai. Autoimmunity against the β_2 adrenergic receptor and muscarinic-2 receptor in complex regional pain syndrome. *Pain*. 2011. december;152(12):2690–700.
14. Marinus J, Moseley GL, Birklein F, Baron R, Maihöfner C, Kingery WS, és mtsai. Clinical features and pathophysiology of complex regional pain syndrome. *The Lancet Neurology*. 2011. július;10(7):637–48.
15. Zyluk A. The Natural History of Post-Traumatic Reflex Sympathetic Dystrophy. *Journal of Hand Surgery*. 1998. február;23(1):20–3.
16. de Mos M, Huygen FJPM, van der Hoeven-Borgman M, Dieleman JP, Ch. Stricker BH, Sturkenboom MCJM. Outcome of the Complex Regional Pain Syndrome. *The Clinical Journal of Pain*. 2009. szeptember;25(7):590–7.
17. Huygen FJPM, de Bruijn AGJ, de Bruin MT, Groeneweg JG, Klein J, Zijlstra FJ. Evidence for local inflammation in complex regional pain syndrome type 1. *Mediators of Inflammation*. 2002;11(1):47–51.
18. Massaad CA, Safieh-Garabedian B, Poole S, Atweh SF, Jabbur SJ, Saadé NE. Involvement of substance P, CGRP and histamine in the hyperalgesia and cytokine upregulation induced by intraplantar injection of capsaicin in rats. *Journal of Neuroimmunology*. 2004. augusztus;153(1–2):171–82.
19. Chopra P, Cooper MS. Treatment of Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) Using Low Dose Naltrexone (LDN). *J Neuroimmune Pharmacol*. 2013. június;8(3):470–6.
20. Del Valle L, Schwartzman RJ, Alexander G. Spinal cord histopathological alterations in a patient with longstanding complex regional pain syndrome. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2009. január;23(1):85–91.
21. Littlejohn G. Neurogenic neuroinflammation in fibromyalgia and complex regional pain syndrome. *Nat Rev Rheumatol*. 2015. november;11(11):639–48.
22. Cairns BE, Arendt-Nielsen L, Sacerdote P. Perspectives in Pain Research 2014: Neuroinflammation and glial cell activation: The cause of transition from acute to chronic pain? *Scandinavian Journal of Pain*. 2015. január 1.;6(1):3–6.
23. Kim J-H, Park J-S, Park D. Anti-allodynic effect of interleukin 10 in a mouse model of complex regional pain syndrome through reduction of NK1 receptor expression of microglia in the spinal cord. *JPR*. 2018. szeptember;Volume 11:1729–41.
24. Martucci C, Trovato AE, Costa B, Borsani E, Franchi S, Magnaghi V, és mtsai. The purinergic antagonist PPADS reduces pain related behaviours and interleukin-1 β , interleukin-6, iNOS and nNOS overproduction in central and peripheral nervous system after peripheral neuropathy in mice. *Pain*. 2008. június;137(1):81–95.

25. Yin C, Hu Q, Liu B, Tai Y, Zheng X, Li Y, és mtsai. Transcriptome profiling of dorsal root ganglia in a rat model of complex regional pain syndrome type-I reveals potential mechanisms involved in pain. *JPR*. 2019. április;Volume 12:1201–16.
26. Van Buyten J-P, Smet I, Liem L, Russo M, Huygen F. Stimulation of Dorsal Root Ganglia for the Management of Complex Regional Pain Syndrome: A Prospective Case Series. *Pain Pract*. 2015. március;15(3):208–16.
27. Tékus V, Hajna Z, Borbély É, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, és mtsai. A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with complex regional pain syndrome. *Pain*. 2014. február;155(2):299–308.
28. Helyes Z, Tékus V, Szentes N, Pohóczky K, Botz B, Kiss T, és mtsai. Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1–induced mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019. június 25.;116(26):13067–76.
29. Jaggi AS, Jain V, Singh N. Animal models of neuropathic pain: Animal models of neuropathic pain. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2011. február;25(1):1–28.
30. Challa SR. Surgical animal models of neuropathic pain: Pros and Cons. *International Journal of Neuroscience*. 2015. március 4.;125(3):170–4.
31. Gilron I, Baron R, Jensen T. *Neuropathic Pain: Principles of Diagnosis and Treatment*. Mayo Clinic Proceedings. 2015. április;90(4):532–45.
32. Mackey S, Feinberg S. Pharmacologic therapies for complex regional pain syndrome. *Curr Pain Headache Rep*. 2007. március;11(1):38–43.
33. Atalay NS, Ercidogan O, Akkaya N, Sahin F. Prednisolone in Complex Regional Pain Syndrome. *Pain Physician*. :8.
34. Jamroz A, Berger M, Winston P. Prednisone for Acute Complex Regional Pain Syndrome: A Retrospective Cohort Study. *Pain Research and Management*. 2020. február 25.;2020:1–10.
35. O'Connell NE, Wand BM, McAuley JH, Marston L, Moseley GL. Interventions for treating pain and disability in adults with complex regional pain syndrome- an overview of systematic reviews. Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group, szerkesztő. *Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]*. 2013. április 30. [idézi 2021. február 13.]; Elérhető: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD009416.pub2>
36. Resmini G. Treatment of complex regional pain syndrome. *ccmbm [Internet]*. 2015 [idézi 2021. február 13.]; Elérhető: <http://www.ccmbm.com/common/php/portiere.php?ID=32ebf01afbf1d1709beb36071af91c26>
37. Pintér E, Helyes Z, Németh J, Pórszász R, Pethő G, Thán M, és mtsai. Pharmacological characterisation of the somatostatin analogue TT-232: effects on neurogenic and non-neurogenic inflammation and neuropathic hyperalgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2002. augusztus 1.;366(2):142–50.
38. Szolcsányi J, Bölcskei K, Szabó Á, Pintér E, Pethő G, Elekes K, és mtsai. Analgesic effect of TT-232, a heptapeptide somatostatin analogue, in acute pain models of the rat and the mouse and in streptozotocin-induced diabetic mechanical allodynia. *European Journal of Pharmacology*. 2004. szeptember;498(1–3):103–9.
39. Helyes Z, Pinter E, Sandor K, Elekes K, Banvolgyi A, Keszthelyi D, és mtsai. Impaired defense mechanism against inflammation, hyperalgesia, and airway hyperreactivity in somatostatin 4 receptor gene-deleted mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. augusztus 4.;106(31):13088–93.
40. Kecskés A, Pohóczky K, Kecskés M, Varga ZV, Kormos V, Szőke É, és mtsai. Characterization of Neurons Expressing the Novel Analgesic Drug Target Somatostatin Receptor 4 in Mouse and Human Brains. *IJMS*. 2020. október 21.;21(20):7788.
41. Kántás B, Börzsei R, Szőke É, Bánhegyi P, Horváth Á, Hunyady Á, és mtsai. Novel Drug-Like Somatostatin Receptor 4 Agonists are Potential Analgesics for Neuropathic Pain. *IJMS*. 2019. december 11.;20(24):6245.
42. Clinical Development Pipeline | Science | Eli Lilly and Company [Internet]. [idézi 2021. február 13.]. Elérhető: <https://www.lilly.com/discovery/clinical-development-pipeline>
43. Scheich B, Gaszner B, Kormos V, László K, Ádori C, Borbély É, és mtsai. Somatostatin receptor subtype 4 activation is involved in anxiety and depression-like behavior in mouse models. *Neuropharmacology*. 2016. február;101:204–15.
44. Zeyda T, Diehl N, Paylor R, Brennan MB, Hochgeschwender U. Impairment in motor learning of somatostatin null mutant mice. *Brain Research*. 2001. július;906(1–2):107–14.
45. Viollet C, Lepousez G, Loudes C, Videau C, Simon A, Epelbaum J. Somatostatinergetic systems in brain: Networks and functions. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2008. május;286(1–2):75–87.
46. Engin E, Stellbrink J, Treit D, Dickson CT. Anxiolytic and antidepressant effects of intracerebroventricularly administered somatostatin: Behavioral and neurophysiological evidence. *Neuroscience*. 2008. december;157(3):666–76.

47. Lin LC, Sibille E. Somatostatin, neuronal vulnerability and behavioral emotionality. *Mol Psychiatry*. 2015. március;20(3):377–87.
48. Saito T, Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Takano J, Huang S-M, és mtsai. Somatostatin regulates brain amyloid β peptide A β 42 through modulation of proteolytic degradation. *Nat Med*. 2005. április;11(4):434–9.
49. Parsons JA, Erlandsen SL, Hegre OD, McEvoy RC, Elde RP. Central and peripheral localization of somatostatin. *Immunoenzyme immunocytochemical studies. J Histochem Cytochem*. 1976. július;24(7):872–82.
50. Reichlin S. Somatostatin. *N Engl J Med*. 1983. december 15.;309(24):1495–501.
51. Brazeau P. Somatostatin: A peptide with unexpected physiologic activities. *The American Journal of Medicine*. 1986. december;81(6):8–13.
52. de Lecea L, Criado JR, Prospero-García Ó, Gautvik KM, Schweitzer P, Danielson PE, és mtsai. A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. *Nature*. 1996. május;381(6579):242–5.
53. Epelbaum J. Somatostatin in the central nervous system: Physiology and pathological modifications. *Progress in Neurobiology*. 1986. január;27(1):63–100.
54. Martel G, Dutar P, Epelbaum J, Viollet C. Somatostatinergic systems: an update on brain functions in normal and pathological aging. *Front Endocrin [Internet]*. 2012 [idézi 2021. február 13.];3. Elérhető: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2012.00154/abstract>
55. Leblanc H, Anderson JR, Sigel MB, Yen SSC. Inhibitory Action of Somatostatin on Pancreatic α and β Cell Function1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1975. április;40(4):568–72.
56. Helyes Z, Pintér E, Németh J, Sándor K, Elekes K, Szabó Á, és mtsai. Effects of the somatostatin receptor subtype 4 selective agonist J-2156 on sensory neuropeptide release and inflammatory reactions in rodents: Effect of J-2156 on inflammatory reactions. *British Journal of Pharmacology*. 2006. október;149(4):405–15.
57. Guilloux J-P, Douillard-Guilloux G, Kota R, Wang X, Gardier AM, Martinowich K, és mtsai. Molecular evidence for BDNF- and GABA-related dysfunctions in the amygdala of female subjects with major depression. *Mol Psychiatry*. 2012. november;17(11):1130–42.
58. Sibille E, Morris HM, Kota RS, Lewis DA. GABA-related transcripts in the dorsolateral prefrontal cortex in mood disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2011. július;14(6):721–34.
59. Tripp A, Kota RS, Lewis DA, Sibille E. Reduced somatostatin in subgenual anterior cingulate cortex in major depression. *Neurobiology of Disease*. 2011. április;42(1):116–24.
60. Baraban SC, Tallent MK. Interneuron Diversity series: Interneuronal neuropeptides – endogenous regulators of neuronal excitability. *Trends in Neurosciences*. 2004. március;27(3):135–42.
61. Thán M, Németh J, Szilvássy Z, Pintér E, Helyes Z, Szolcsányi J. Systemic anti-inflammatory effect of somatostatin released from capsaicin-sensitive vagal and sciatic sensory fibres of the rat and guinea-pig. *European Journal of Pharmacology*. 2000. július;399(2–3):251–8.
62. Schindler M, Humphrey PPA, Emson PC. Somatostatin receptors in the central nervous system. *Progress in Neurobiology*. 1996. szeptember;50(1):9–47.
63. Vezzani A, Hoyer D. Brain somatostatin: a candidate inhibitory role in seizures and epileptogenesis: Brain somatostatin. *European Journal of Neuroscience*. 1999. november;11(11):3767–76.
64. Viollet C, Bodenant C, Prunotto C, Roosterman D, Schaefer J, Meyerhof W, és mtsai. Differential Expression of Multiple Somatostatin Receptors in the Rat Cerebellum During Development. *Journal of Neurochemistry*. 2002. november 18.;68(6):2263–72.
65. Gastambide F, Lepousez G, Viollet C, Loudes C, Epelbaum J, Guillou J-L. Cooperation between hippocampal somatostatin receptor subtypes 4 and 2: Functional relevance in interactive memory systems. *Hippocampus*. 2009;NA-NA.
66. Nakagawasai O, Hozumi S, Tan-No K, Nijima F, Arai Y, Yasuhara H, és mtsai. Immunohistochemical fluorescence intensity reduction of brain somatostatin in the impairment of learning and memory-related behaviour induced by olfactory bulbectomy. *Behavioural Brain Research*. 2003. június;142(1–2):63–7.
67. Schreff M, Schulz S, Händel M, Keilhoff G, Braun H, Pereira G, és mtsai. Distribution, Targeting, and Internalization of the sst 4 Somatostatin Receptor in Rat Brain. *J Neurosci*. 2000. május 15.;20(10):3785–97.
68. Schuelert N, Just S, Kuelzer R, Corradini L, Gorham LCJ, Doods H. The somatostatin receptor 4 agonist J-2156 reduces mechanosensitivity of peripheral nerve afferents and spinal neurons in an inflammatory pain model. *European Journal of Pharmacology*. 2015. január;746:274–81.
69. Shenoy PA, Kuo A, Khan N, Gorham L, Nicholson JR, Corradini L, és mtsai. The Somatostatin Receptor-4 Agonist J-2156 Alleviates Mechanical Hypersensitivity in a Rat Model of Breast Cancer Induced Bone Pain. *Front Pharmacol*. 2018. május 15.;9:495.

70. Florio T, Ventra C, Postiglione A, Schettini G. Age-related alterations of somatostatin gene expression in different rat brain areas. *Brain Research*. 1991. augusztus;557(1–2):64–8.
71. Sandoval KE, Farr SA, Banks WA, Niehoff ML, Morley JE, Crider AM, és mtsai. Chronic peripheral administration of somatostatin receptor subtype-4 agonist NNC 26-9100 enhances learning and memory in SAMP8 mice. *European Journal of Pharmacology*. 2011. március;654(1):53–9.
72. Ruan Q, D’Onofrio G, Sancarolo D, Greco A, Lozupone M, Seripa D, és mtsai. Emerging biomarkers and screening for cognitive frailty. *Aging Clin Exp Res*. 2017. december;29(6):1075–86.
73. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the Neuroregulation of Growth Hormone Secretion in Experimental Animals and the Human. 1998;19(6):81.
74. Kuwahara S, Kesuma Sari D, Tsukamoto Y, Tanaka S, Sasaki F. Age-related changes in growth hormone (GH)-releasing hormone and somatostatin neurons in the hypothalamus and in GH cells in the anterior pituitary of female mice. *Brain Research*. 2004. október;1025(1–2):113–22.
75. Kim K, Choe HK. Role of hypothalamus in aging and its underlying cellular mechanisms. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2019. január;177:74–9.
76. Thompson RF, Kim JJ. Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996. november 26.;93(24):13438–44.
77. Ungvari Z, Tarantini S, Hertelendy P, Valcarcel-Ares MN, Fülöp GA, Logan S, és mtsai. Cerebrovascular dysfunction predicts cognitive decline and gait abnormalities in a mouse model of whole brain irradiation-induced accelerated brain senescence. *GeroScience*. 2017. február;39(1):33–42.
78. Logan S, Owen D, Chen S, Chen W-J, Ungvari Z, Farley J, és mtsai. Simultaneous assessment of cognitive function, circadian rhythm, and spontaneous activity in aging mice. *GeroScience*. 2018. április;40(2):123–37.
79. Borbély É, Scheich B, Helyes Z. Neuropeptides in learning and memory. *Neuropeptides*. 2013. december;47(6):439–50.
80. Scheich B, Vincze P, Szőke É, Borbély É, Hunyady Á, Szolcsányi J, és mtsai. Chronic stress-induced mechanical hyperalgesia is controlled by capsaicin-sensitive neurones in the mouse. *Eur J Pain*. 2017. szeptember;21(8):1417–31.
81. Holcomb LA, Gordon MN, Jantzen P, Hsiao K, Duff K, Morgan D. Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: Lack of association with amyloid deposits. :9.
82. Hullmann M, Albrecht C, van Berlo D, Gerlofs-Nijland ME, Wahle T, Boots AW, és mtsai. Diesel engine exhaust accelerates plaque formation in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Part Fibre Toxicol*. 2017. december;14(1):35.
83. Frick KM, Burlingame LA, Arters JA, Berger-Sweeney J. Reference memory, anxiety and estrous cyclicity in C57BL/6NIA mice are affected by age and sex. *Neuroscience*. 1999. november;95(1):293–307.
84. Gresack JE, Frick KM. Male mice exhibit better spatial working and reference memory than females in a water-escape radial arm maze task. *Brain Research*. 2003. augusztus;982(1):98–107.
85. Zhang H-T, O’Donnell JM. Effects of rolipram on scopolamine-induced impairment of working and reference memory in the radial-arm maze tests in rats. *Psychopharmacology*. 2000. június;150(3):311–6.
86. Bevins RA, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study „recognition memory”. *Nat Protoc*. 2006. augusztus;1(3):1306–11.
87. Carola V, D’Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*. 2002. augusztus;134(1–2):49–57.
88. Gaszner B, Kormos V, Kozicz T, Hashimoto H, Reglodi D, Helyes Z. The behavioral phenotype of pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide-deficient mice in anxiety and depression tests is accompanied by blunted c-Fos expression in the bed nucleus of the stria terminalis, central projecting Edinger–Westphal nucleus, ventral lateral septum, and dorsal raphe nucleus. *Neuroscience*. 2012. január;202:283–99.
89. Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process*. 2012. május;13(2):93–110.

VIII. PUBLIKÁCIÓS LISTA

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:

Helyes Zs, Tékus V, **Szentes N**, Pohóczky K, Botz B, Kiss T, Kemény Á, Környei Zs, Tóth K, Lénárt N, Ábrahám H, Pinteaux E, Francis S, Sensi S, Dénes Á, and Goebel A: Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1-induced mechanisms; *PNAS* (2019), 116(26)13067-13076.doi.org/10.1073/pnas.1820168116

Pohóczky K, Kun J, **Szentes N**, Aczel T, Urbán P, Gyenesei A, Bölcskei K, Szőke É, Sensi S, Dénes Á, Goebel A, Tékus V, Helyes Zs Discovery of novel targets in a CRPS mouse model by transcriptomics: TNF and JAK - STAT pathway; beküldött kézirat 2021

Szentes N, Tékus V, Mohos V, Borbély É, Helyes Zs: Exploratory and locomotor activity, learning and memory functions in somatostatin receptor subtype 4 gene-deficient mice in relation to aging and sex; *GeroScience* (2019) 41:631–64. doi: 10.1007/s11357-019-00059-1.

Egyéb publikációim:

Ádám István Horváth, **Nikolett Szentes**, Valéria Tékus, Maja Payrits, Éva Szőke és mtsai.: Proof-of concept for the analgesic effect and thermoregulatory safety of orally administered multi-target compound SZV 1287 in mice: a novel drug candidate for neuropathic pain; *Beküldve: Biomedicines*, 2021

Ádám Horváth, Valéria Tékus, Noémi Bencze, **Nikolett Szentes** és mtsai.: Analgesic effects of the novel semicarbazide-sensitive amine oxidaseinhibitor SZV 1287 in mouse pain models with neuropathicmechanisms: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1and ankyrin 1 receptors; *Pharmacological Research*, Volume 131, May 2018, Pages 231-243

György Schneider, **Nikolett Szentes**, Marianna Horváth, Ágnes Dorn és mtsai.: Kinetics of Targeted Phage Rescue in a Mouse Model of Systemic *Escherichia coli* K1; *BioMed Research International*, Volume 2018, Article ID 7569645, 8 pages

Eszter Pakai, Valeria Tekus, Csaba Zsiboras, Zoltan Rumbus1, Eموke Olah, Patrik Keringer, Nora Khidhi, Robert Matics, Laszlo Deres, Katalin Ordog, **Nikolett Szentes** és mtsai.: The neurokinin-1 receptor contributes tothe early Phase of lipopolysaccharide-induced Fever via stimulation of Peripheral cyclooxygenase-2 Protein expression in Mice; *Frontiers in Immunology*, 05 February 2018

Horváth Ádám, Borbély Éva, Bölcskei Kata, **Szentes Nikolett**, Kiss Tamás és mtsai.: Regulatory role of capsaicin-sensitive peptidergic sensory nerves in the proteoglycan-induced autoimmune arthritis model of the mouse; *Journal of neuroinflammation* 2018 Dec 3;15(1):335.

PhD hallgatóként elért díjak, kitüntetések

Szentes Nikolett, Tékus Valéria, Mohos Violetta, Helyes Zsuzsanna: A szomatosztatin 4 receptor szerepének vizsgálata tanulás és memória egérmodelljeiben; A Magyar Élettani Társaság, A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság közös Vándorgyűlése (Debrecen) 2017.06.13-16. - Poszter különdíjas helyezés

Nikolett Szentes, Valéria Tékus, Violetta Mohos, Zsuzsanna Helyes: Investigation of learning, memory, locomotor activity and anxiety in somatostatin receptor 4 deficient mice, interactions with aging and sex; 11th FENS Forum of Neuroscience Konferencia (Berlin) 2018.07.07-11. - Poszter bizonyítvány

Szentes Nikolett, Tékus Valéria, Pohóczky Krisztina és mtsai.: Neuroinflammációs mechanizmusok szerepe a centrális szenzitizációban Komplex Regionális Fájdalom Szindróma passzív transzfer-trauma egérmodelljében; FAMÉ 2019 - Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Anatómus Társaság, Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság, Magyar Élettani Társaság Közös Vándorgyűlése (Budapest) 2019.06.05-08. - Poszter prezentációért járó első helyezett

Nikolett Szentes, Krisztina Pohóczky, Valéria Tékus és mtsai.: Neuroinflammatory mechanisms of central sensitization are mediated by TNF- and IL1-driven pathways in a passive transfer-trauma mouse model of Complex Regional Pain Syndrome (CRPS); European Pain Federation (Valencia) 2019.09.04-07. - Fialat kutatók első helyezett poszter díja a fájdalom szindrómák poszter szekciójában

Szentes Nikolett, Tékus Valéria, Pohóczky Krisztina és mtsai.: Neuroinflammációs mechanizmusok szerepe a centrális szenzitizációban Komplex Regionális Fájdalom Szindróma (CRPS) passzív transzfer-trauma egérmodelljében; MOFT - Magyarországi Fájdalom Társaság 2019. évi Konferenciája, (Szeged) 2019.11.08-09. - Poszter prezentációért járó első helyezett, mely előadás formájában került bemutatásra

Zsuzsanna Helyes, Valéria Tékus, **Nikolett Szentes**, Krisztina Pohóczky és mtsai.: Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1-induced mechanisms; Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Ifjúsági Pályázat 2019, 2020.04.03. - Első helyezett díj

Értekezés alapját szolgáló közlemények impakt faktora: 9,412

Egyéb publikációk impakt faktora: 18,187

Összes citációk száma (MTMT): 45

Független citációk száma (MTMT): 30

Összes citációk száma (Google Scholar): 71