

Doktori (PhD) értekezés tézisei

# **FÁJDALOMBAN SZEREPET JÁTSZÓ MECHANIZMUSOK KOMPLEX ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATA**



**Tékus Valéria**

**Gyógyszertudományok Doktori Iskola - Neurofarmakológiai Program**

**Doktori Iskola- és Programvezető: Dr. Pintér Erika**

**Témavezető: Dr. Helyes Zsuzsanna, Dr. Pethő Gábor**

**Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar**

**Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet**

**2014**

## BEVEZETÉS

Az International Association for the Study of Pain (IASP) szerint a fájdalom egy kellemetlen szubjektív érzéskvalitás, mely tényleges vagy potenciális szövetkárosodást jelez. Állatkísérletek során csak a nociceptorok aktiválódását, illetve a fájdalmas stimulusra adott elhárító (nocifenzív) magatartást tudjuk vizsgálni. A nociceptorok a szövetkárosító ingerekre specifikusan reagáló szenzoros idegvégződés, többféle szempontból csoportosíthatók. Érzékenység alapján megkülönböztethetünk unimodális (csak termális vagy mechanikai ingerekkel stimulálható) illetve polimodális (hő-, mechanikai és kémiai ingerekkel egyaránt aktiválható) receptorokat. Axonjaik mielinizáltsága alapján vékonyan mielinizált, gyorsan vezető (12–30 m/s) A $\delta$  nociceptorokra, és mielinhüvely nélküli, lassan vezető (0,5–2 m/s) rostokkal rendelkező C nociceptorokra oszthatjuk őket.

### **Kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés**

A perifériás nociceptorok egy nagy csoportját, kb. 50-70%-át alkotják a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés (Holtzer és mtsai. 1991). Nevüket a csípős paprika alkaloidjáról, a kapszaicinről kapták, mivel ezen idegvégződés membránjában lokalizálódik receptora, a Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) ioncsatorna. Ezek az érzőideg-végződés egyedülálló módon ún. hármas funkcióval rendelkeznek: egyrészt a klasszikus afferens funkcióval, mely során az ingerületbe került szenzoros idegvégződés a központi idegrendszer felé közvetíti az idegaktivitást, ennek következtében kialakul a fájdalomérzet, vagyis a nocicepció. Az aktivált érzőideg-végződésekből gyulladáskeltő szenzoros neuropeptid (kalcitonin gén-rokon peptid (CGRP), tachikininek (substance P (SP) és neurokinin A (NKA)) szabadulnak fel, melyek értágulatot, plazmafehérje kiáramlást okoznak, továbbá a gyulladós sejtek aktivációjával hozzájárulnak a neurogén gyulladáshoz (Szolcsányi 1984 a, b, 1988). Ezt a folyamatot nevezzük lokális afferens funkciónak. A neurogén gyulladás számos betegség patomechanizmusában meghatározó szerepet játszik, jelenleg azonban egyetlen gyógyszercsoport sem képes hatékonyan gátolni a betegség neurogén komponensét (Helyes és mtsai. 2003). A gyulladáskeltő neuropeptid mellett, gyulladásgátló és fájdalomcsillapító mediátorok (pl. szomatosztatin, hipofízis-adenilát-cikláz-aktiváló polipeptid (PACAP)) is felszabadulnak, melyek a keringésbe jutva a test távolabbi pontjaira eljutva akadályozzák a neurogén és nem neurogén gyulladás kialakulását, illetve analgetikus hatást váltanak ki. Ez az érzőideg-végződés harmadik, ún. szisztémás afferens funkciója (Szolcsányi és mtsai. 1998 a, b).

### **A Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) és Ankyrin 1 (TRPA1) receptorok felépítése és funkciója**

A hátsó gyöki és trigeminus ganglionokban a polimodális nociceptív primer szenzoros neuronokon expresszálódnak, a Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid családba tartozó Vanilloid 1 és Ankyrin 1 receptorok. Mindkét receptor jelentős szerepet játszik az érzőidegek aktivációján keresztül a fájdalom (Fernandes és mtsai. 2011) és a neurogén gyulladás (Geppetti és mtsai. 2008) mechanizmusában. A

TRPA1-et expresszáló szenzoros neuronok 97%-ának membránjában megtalálható a TRPV1 receptor is, míg a TRPV1-et expresszáló neuronok 30%-ában koexpresszálódik a TRPA1 is (Story és mtsai. 2003). A TRPV1 egy olyan receptor, mely fizikai és kémiai ingerek számára molekuláris integrátor funkciót lát el (Tominaga és mtsai. 1998). A receptor létezését, Szolcsányi már 1975-ben valószínűsítette (Szolcsányi 1975). Számos exogén növényi eredetű irriláló vanilloid vegyület (reziniferatoxin (RTX), piperin, gingerol) (Pingle és mtsai. 2007, Szállási 2007) képes aktiválni, ezért a receptor eredeti elnevezése vanilloid receptor 1 (VR1) lett, melyet azonban az egyéb tranzien receptorpotenciált közvetítő ioncsatornákkal mutatott szerkezeti hasonlóságai miatt később TRPV1-re változtattak (Gunthorpe és mtsai. 2002). Kapszaicin melletti másik fontos stimulátora a fájdalmas intenzitású hő (43°C felett), míg a pH változása (acidózis), „endovanilloidok” (pl. anandamid), arachidonsav-metabolitok, oxidált linolsav metabolitok, és esszenciális olajok is képesek még a receptort aktiválni (Pingle és mtsai. 2007, Szállási 2007). Gyulladásélesztő mediátorok, mint bradikinin, prosztaglandinok, adenzin-trifoszfát (ATP), proteáz aktiváló receptorok (PAR 1, 2, 4), tumor nekrozis faktor-alfa (TNF-alfa), idegnövekedési faktor (nerve growth factor, NGF) is érzékenyítik a receptort foszforiláció révén. Ezen mediátorok hatására a csatornaproteinek allosztérikusán modifikálódnak, ezáltal növelik a hő, a protonok és/vagy a kapszaicin által kiváltott receptor aktiváció mértékét (Moriyama és mtsai. 2005, Szállási és mtsai. 2007). A TRPA1 receptor exogén agonistái közül jelentősek a növényi eredetű vegyületek, a mustárolajban található allil-izotiocianát (AITC) (Jordt és mtsai. 2004, Bandell és mtsai 2004, Bautista és mtsai. 2006), a fokhagymában levő allicin (Macpherson és mtsai. 2005), fahéjaldehid (Macpherson és mtsai. 2006), továbbá toxikus kipufogó gázokban és dohányfüstben található vegyületek (pl. akrolein) (Bautista és mtsai. 2006). Endogén agonistái között tartják számon az oxidatív stressz során felszabaduló reaktív gyököket (Bessac és mtsai. 2008b), köztük a 4-hidroxinonenalt (Trevisani és mtsai. 2007), lipid peroxidáz termékeket (Taylor-Clark és mtsai. 2008). A TRPA1 receptor endogén modulátorai között szerepelnek a gyulladásos folyamatok során felszabaduló ágensek, pl. bradikinin (Bandell és mtsai. 2004), PAR-2 agonisták (Dai és mtsai. 2007), továbbá a hidrogén-szulfid (H<sub>2</sub>S) (Miyamoto és mtsai. 2011). Cink, réz és kadmium ionok is képesek a receptort aktiválni (Hu és mtsai. 2009, Gu és Lin 2010).

A TRPA1 receptor hidegérzékelésben betöltött szerepéről rendelkezésre álló adatok egymásnak ellentmondóak. Számos különböző eredmény született e téren, vannak, akik mellette (Story és mtsai. 2003, Obata és mtsai. 2005, Kwan és mtsai. 2006, Sawada és mtsai. 2008), vannak, akik ellene érvelnek (Jordt és mtsai. 2004, Nagata és mtsai. 2005, Bautista és mtsai. 2006). Feltételezhetően más mechanizmusok mellett a TRPA1 is hozzájárul a 17°C alatti hőmérséklet érzékeléséhez.

### **Új típusú analgetikumok fejlesztésének indokoltsága**

A fájdalomcsillapítás területén új támadáspontú szerek fejlesztésében az elmúlt 100 évben nem történt lényegi áttörés. Évtizedek óta ugyanazon hatásmechanizmusú gyógyszereket használják, melyek két nagy csoportra oszthatók, a nem-szteroid gyulladáscsökkentőkre (NSAID) illetve az opioidokra. Bár a

korábban felsorolt két csoportba tartozó vegyületek a legtöbb esetben hatékony fájdalomcsillapítók, mégis egyes fájdalom állapotokban (pl. neuropátiás fájdalomban) hatástalannak bizonyulnak. Ezen esetekben adjuváns analgetikumok alkalmazására van szükség. Azonban gyakran e szerek alkalmazása mellett sem kielégítő a hatás, melynek eredményességét tovább csökkentik az esetenként súlyos mértékben jelentkező mellékhatások.

Mindezek alapján sürgető olyan új típusú célmolekulák azonosítása, melyek a perifériás nociceptorokon szeletíven ható fájdalomcsillapítók támadáspontjai lehetnek.

#### **CÉLKITŰZÉSEK:**

Kutatásaink során *in vivo* nociceptív modellek alkalmazásával vizsgáltuk a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéseken található receptorok aktivációját és gátlását, illetve különböző fájdalom és gyulladás-modellekben játszott szerepüket különböző farmakológiai vegyületek, illetve génhiányos egerek felhasználásával. Céljaink a következők voltak:

**I.** A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés és a TRPV1 receptor deszenzibilizációjának vizsgálata patkányokban fájdalmas hő- illetve hidegküszöb meghatározásán alapuló módszerekkel.

**II.** Három különböző gyógyszerceg által kifejlesztett TRPV1 receptor antagonistá vegyület (SB705498, BCTC és AMG9810) hatásainak vizsgálata RTX által kiváltott, plantáris bőr-izom incíziót követő, illetve enyhe hőtrauma következtében kialakuló hőhiperalgéziában, az intézetben kidolgozott emelkedő hőmérsékletű vízfürdő módszerrel. A módszer érzékenységének meghatározásához a vizsgált antagonisták hatásait hasonlítottuk össze RTX által indukált hőhiperalgézia modellben, az elhárító reakció latenciaidejének mérésén alapuló (plantár-teszt) módszerrel.

**III.** A korábban patkány lábán történő fájdalmas hőküszöbök meghatározására kidolgozott emelkedő hőmérsékletű vízfürdő módszertani fejlesztése, mely által a készülék alkalmassá vált egerek farkán mért hőküszöb értékek meghatározására is. Mivel az irodalomban ellentmondásos adatok állnak rendelkezésre mind a TRPV1, mind pedig a TRPA1 receptor hő- és mechanikai-érzékelésben betöltött szerepével kapcsolatban, munkám további célja volt génhiányos egerek felhasználásával tisztázni és vizsgálni e receptorok funkcióit fájdalmas küszöbmérésre alkalmas módszerekkel.

**IV.** Céljaink között szerepelt egy megbízhatóan működő passzív-transzfer trauma egérmódelld kidolgozása és beállítása a Komplex Regionális Fájdalom Szindróma (CRPS) vizsgálatához a Liverpooli Egyetem Fájdalom Központjával való kollaboráció keretében (dr. Andreas Goebel, Department of Translational Medicine, és Walton Pain Center, University of Liverpool).

# I. TRPV1 RECEPTOR AGONISTÁK DESZENZIBILIZÁLÓ ANTINOCICEPTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA FÁJDALMAS HŐ- ÉS HIDEGKÜSZÖB MÉRÉSÉVEL PATKÁNYBAN

A hő, mechanikai és kémiai ingerekkel is aktiválható polimodális nociceptorok szerepének - melyek a TRPV1 receptorokat is expresszálják - vizsgálata a kapszaicin szelektív aktiváló és az azt követő gátló hatásának felismerésével kezdődött. A természetes körülmények között a marokkói *Euphorbia resinifera* növényben előforduló reziniferatoxin (RTX) is képes a TRPV1 receptort aktiválni. Kapszaicinnél százszor potensebb, vagyis meghatározott koncentrációjú kapszaicin által kiváltott hatás eléréséhez az RTX százszor kisebb koncentrációja is elegendő (Szolcsányi 1990, Szállási 1999). Az N-oleoldopamin (OLDA) is TRPV1 receptor aktivátor, bár affinitása kisebb, mint a kapszaicinnek (Chu és mtsai 2003, Szolcsányi és mtsai 2004).

A TRPV1 receptor aktivációja során  $\text{Na}^+$  és  $\text{Ca}^{2+}$  ionok áramlanak be a sejtbe, melyet  $\text{K}^+$  ion kiáramlás követ. A beáramló  $\text{Na}^+$  ionok hatására a membrán depolarizálódik és kialakul az akciós potenciál, ezáltal a fájdalomérzet (nocicepció), míg a sejtbe kerülő  $\text{Ca}^{2+}$  ionok hatására az idegvégződésből szenzoros neuropeptidek szabadulnak fel. Ha a TRPV1 tartósan vagy gyakran kerül aktivált állapotba, a sejten belüli kation koncentráció megnövekszik, melynek következtében a citoplazma és a mitokondriumok megduzzadnak, ezáltal a sejtek energiaforgalma csökken, majd idővel az idegvégződés működésképtelenné válik. Ezt a folyamatot deszenzibilizációnak nevezzük, melynek két formája ismert. Előkezelésként kis dózisban vagy rövidebb ideig alkalmazva adott kapszaicin és más TRPV1 receptor agonisták hatására csak ezen anyagokra nézve szűnik meg a válaszkészség, feltételezhetően ekkor csak a TRPV1 receptor deszenzibilizálódik. Magasabb koncentrációban és hosszabb ideig alkalmazva a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés válaszkészsége az összes ingerre nézve csökken vagy megszűnik. Ez esetben a TRPV1 receptort expresszáló nociceptív idegvégződés egészének funkciócsökkenéséről van szó, melynek hátterében dózistól függően ultrastrukturális vagy markánsabb morfológiai eltérések állnak (Szolcsányi és mtsai. 1975, 1987, Szállási és mtsai. 1989, Bevan és Szolcsányi 1990, Szolcsányi 1993).

## MÓDSZEREK

**1. Az érzőideg-végződés deszenzibilizációjának vizsgálata:** Patkányok mindkét talpába egyszeri dózisban 100  $\mu\text{l}$ -t injektáltunk kapszaicin (3,3 nmol – 1  $\mu\text{mol}$ ) vagy RTX (0,016 – 0,5 nmol) illetve OLDA (5nmol - 1,25  $\mu\text{mol}$ ) különböző oldataiból. A fájdalmas hő- illetve hidegküszöb meghatározását egyenletesen emelkedő/csökkenő hőmérsékletű forró/hideg lapú készülékkel ezután naponta ismételtük addig, míg a kiindulási kontroll értékekhez viszonyított szignifikáns különbség el nem tűnt.

Ugyanazon patkányok csoportjaiban meghatároztuk a fájdalmas hő és hidegküszöb értékeket a kezelések előtt, a bilaterálisan beadott kapszaicin (0,1 és 1  $\mu\text{mol}$  i.pl.) vagy RTX (0,16 és 0,5 nmol i.pl.) kezelés után, majd 1 héten keresztül naponta detektáltuk a termociceptív küszöbök változásait.

**2. A TRPV1 receptor deszenzibilizációjának vizsgálata:** A homológ deszenzibilizáció vizsgálatához az állatok egyik talpába RTX-et (0,016 nmol, 50 µl i.pl.) vagy OLDA-t (250 nmol, 50 µl i.pl.) illetve ezek vehikulumát injektáltuk. Ezután detektáltuk a küszöbcsökkenést és az akut nocifenzív viselkedés időtartamát, vagyis a láb nyalásával, rázásával és emelésével töltött időt. 3 óra elteltével ismét meghatároztuk a hőküszöböt, majd RTX-et (0,016 nmol, 50 µl i.pl.) vagy OLDA (5 nmol, 50 µl i.pl.) illetve ezek vehikulumát injektáltunk a korábban kezelt talpba. A kialakuló deszenzibilizáció specifikitásának vizsgálatához azonos koncentrációjú RTX (0,016 nmol), vagy vehikulum előkezelés (3 órával korábban) után az állatok két csoportjának talpába 1% formalint injektáltunk, majd vizsgáltuk a nocifenzív reakciókra gyakorolt hatást. Az OLDA és RTX között lehetséges kereszt-deszenzibilizáció megfigyeléséhez az állatokat OLDA-val (250 nmol, 50µl i.pl.) vagy annak vehikulumával előkezeltük, 3 óra elteltével az azonos talpat RTX-szel (0,016 nmol, 50µl i.pl.) kezeltük, majd a hatására létrejövő nocifenzív reakció időtartamát és a termonociceptív küszöbváltozását mértük.

## **EREDMÉNYEK**

**1. Az érzőideg-végződés deszenzibilizációjának vizsgálata:** Az intraplantárisan adott kapszaicin, illetve RTX dózisfüggő módon megemelte az egymást követő napokon vizsgált nociceptív hőküszöb értékeket. A minimális effektív dózis kapszaicin esetében 10 nmol, míg RTX esetében 0,05 nmol volt. A maximális küszöbemelkedés  $2,3 \pm 0,5$  °C volt az általunk alkalmazott kapszaicin dózisoknál, míg ez az RTX esetében  $2,8 \pm 0,5$  °C volt. Az agonisták által kiváltott hatás időtartama dózis-függő volt, azonban az OLDA egyik vizsgált koncentrációja sem rendelkezett szignifikáns hőküszöbemelő hatással. A fájdalmas hő- illetve hidegküszöbök párhuzamos vizsgálata során csak a kapszaicin (0,1 és 1 µmol i.pl.) és RTX (0,16 és 0,5 nmol i.pl.) nagyobb dózisa okoztak szignifikáns csökkenést a hidegküszöb értékekben, melyek 2-4 nap alatt visszaálltak a kiindulási kontroll állapotba.

**2. A TRPV1 receptor deszenzibilizációjának vizsgálata:** Az intraplantárisan beadott 0,016 nmol RTX illetve 5 nmol OLDA akut elhárító reakciót váltott ki, mely 5 illetve 10 percen belül megszűnt. Mindkét agonista hatására egy jól kifejezett, 8-10 °C-os hőküszöbcsökkenés is létrejött, mely 30 perc elteltével megszűnt. A TRPV1 receptor kémiai ingerekkel szemben mutatott deszenzibilizációjának mértékének meghatározásához, a patkányok előzőleg kezelt talpába a korábbival megegyező dózisu RTX-et (0,016 nmol) illetve OLDA-t (5 nmol) injektáltunk. A 3 óra elteltével adott második injekció hatására mind a nocifenzív reakció időtartama, mind pedig a hőküszöbcsökkenés mértéke szignifikánsan kisebb volt az első injekció által kiváltott válaszoknál mindkét agonista esetében. Ugyanakkor 0,016 nmol RTX nem okozott szignifikáns változást a 3 órával később beadott TRPA1 agonista formalin (McNamara, 2007) 1%-os oldatával kiváltott a nocifenzív reakció időtartamában. Az OLDA előkezelés (250 nmol i.pl.) ugyancsak csökkentette 3 óra múlva a kezelt talpba beadott RTX (0,016 nmol) akut hatásait a vehikulumos előkezelést kapott állatokkal összehasonlítva, mely a két TRPV1 agonista között létrejövő kereszt-deszenzibilizációra utal.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

Jelen kísérleteinkben a lokálisan, a talpba adott kapszaicin és RTX tartós hőküszöb emelkedést okozott, ezáltal jelezve a termális antinocicepciót. Mind a kapszaicin, mind az RTX hőküszöbemelő hatásának időtartama dóziszfüggő volt: az alacsonyabb dózisok hatásai 2-5 napig tartottak, míg nagyobb dózisok esetében a hatás több mint egy hétig, de legfeljebb 11 napig volt megfigyelhető. A hosszantartó hőküszöb emelő hatás hátterében a funkcionális deszenzibilizáció vagyis a TRPV1 receptort expresszáló polimodális idegvégződések károsodása állhat, melynek következtében minden őket ért ingerre kevésbé reagálnak.

A talpba adott RTX vagy OLDA az állatokban akut nocifenzív reakciót vált ki, és jelentős hőküszöbcsökkentő hatással bír, mely hatások szinte teljesen kivédhetőek voltak, ha az állatokat intraplantárisan hosszantartó hőküszöbemelő hatással nem rendelkező dózisu ugyanazon TRPV1 agonista előkezelésben részesítettük. Ez esetben maga a TRPV1 receptor deszenzibilizálódott, nem pedig az egész érzőideg-végződés. Kis dózisu RTX ismételt adása gátolta a hatására kialakuló akut elhárító reakciók megjelenését, de nem befolyásolta a formalin okozta akut nocifenzív reakciókat, tehát ez azt bizonyítja, hogy a receptor deszenzibilizációja az érzőideg-végződés funkciójának károsodása nélkül valósult meg. A TRPV1 receptor agonisták révén létrejövő hidegküszöb csökkenés magyarázata a hideg érzékeny nociceptorok károsodása, melynek deszenzibilizációs molekuláris mechanizmusa mindeztáig ismeretlen. Azon megfigyelés, mely szerint a hidegküszöb értékek hamarabb térnek vissza a kontroll, kiindulási szintre, mint ahogy a hőküszöb értékek normalizálnának, arra enged következtetni, hogy a fájdalmas intenzitású hő- illetve hideg-válaszkésztség - legalább részben - különböző rostokon közvetítődik.

## **II. TRPV1 ANTAGONISTÁK HATÁSAINAK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ TERMÁLIS HIPERALGÉZIA MODELLEKBEN**

A preklinikai kutatások során számos olyan molekuláris mechanizmust azonosítottak, melyek szerepet játszanak a fájdalom kialakulásában és fenntartásában, ezáltal kiváló célpontok lehetnek a gyógyszerfejlesztés során. Tekintve, hogy nagyszámú endogén fájdalomkeltő (nociceptív) / szenzitizáló ágens hat a TRPV1 ioncsatornán, ezért a receptor ígéretes célpontja lehet olyan új típusú analgetikus vegyületek fejlesztésének, melyek direkt módon blokkolják a perifériás nociceptorokat (Brederson és Szállási 2013).

### **MÓDSZEREK**

**1. RTX-szel kiváltott nociceptív hőküszöbcsökkenés:** A kontroll mérések elvégzése után előkezelésként TRPV1 antagonistá vegyületeket vagy azok vehikulumát adtunk szájon át (0,5 ml / 100 g per os), majd 1 óra elteltével 0,01 µg RTX-et injektáltunk a patkányok egyik hátsó lábának talpába.

Ezt követően emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel meghatároztuk az RTX kezelést követő 5., 10., 15., 20. percben a fájdalmas hőküszöb értékeket.

**2. Enyhe hőtraumával kiváltott hőküszöbcsökkenés:** A kontroll mérések elvégzése után az állatokat halotánnal altattuk, majd az egyik hátsó lábukat 20 s-ig 51°C -os forró vízbe merítettük. A hőtraumát követő 20. percben az antagonistákat illetve azok vehikulumát intraperitoneálisan (i.p. 0.5 ml / 100 g) adtuk, majd 40, 50, és 60 percnél ismételtén meghatároztuk az állatok fájdalmas hőküszöbét.

**3. Plantáris incízióval kiváltott hőküszöbcsökkenés:** A hőküszöbcsökkenést az állatok egyik hátsó lábán elvégzett talpi incíziós műtéti eljárással váltottuk ki (Füredi és mtsai. 2009). A kontroll hőküszöb mérések után, a patkányokat pentobarbitállal (50 mg / kg i.p.) elaltattuk, majd fél cm-re a saroktól 1 cm hosszán a talp középvonala mentén bemetsztük a bőrt, az izmot és az inakat is. 24 óra elteltével elvégeztük a kontroll méréseket, majd az antagonisták illetve a vehikulum orális adása (p. o. 0,5 ml / 100 g) után 1, 2, 3, 4 óra múlva a termonocicepciós küszöbök ismételt mérésével vizsgáltuk a hiperalgéziát.

**4. RTX indukálta hiperalgézia mérése Plantar Test készülékkel (latenciaidő mérés):** A kontroll mérések elvégzése után 0,06 µg RTX-et injektáltuk a patkányok egyik talpába, majd 10 perc elteltével újból megmértük a latenciaidőt. Az állatok egyik csoportja előkezelésként TRPV1 antagonistát (0,5 ml / 100 g p. o.), míg a másik csoport, azonos térfogatú vehikulumot kapott 1 órával az RTX kezelés előtt.

## EREDMÉNYEK

**1. RTX által kiváltott hőküszöbcsökkenés gátlása:** A patkányok kontroll termonocicepciós küszöbe  $43,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  volt (n=36). Az emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel mérve nagymértékű (8-10 °C) küszöbcsökkenést detektáltunk, mely a vizsgálat alatt végig fennmaradt. Az előkezelésben alkalmazott antagonisták mindegyike dóziszfüggően gátolta az RTX által indukált küszöbcsökkenést mindegyik mérési időpontban 1-30 mg/kg p.o. dózisban. A minimális hatékony dózis 1 mg/kg volt mindhárom antagonistá esetében. Az SB705498 legnagyobb koncentrációban adva (10 mg/kg) teljesen megszüntette a kialakult hőküszöbcsökkenést, míg a BCTC (30 mg/kg) 74,5% és az AMG9810 (10 mg/kg) 66,2% maximális gátlást okozott.

**2. Az enyhe hőtraumával kiváltott hőküszöbcsökkenés gátlása:** A termális hiperalgézia kialakulása utáni 20. percben i.p. beadott antagonisták mindegyike szignifikánsan mérsékelte a küszöbcsökkenést. A minimális effektív dózis SB705498 esetében 10 mg/kg, BCTC adásakor 3 mg/kg, míg az AMG9810 vegyületnél 1 mg/kg volt. Az SB705498 és BCTC dózis-hatás görbéi a maximális beadott dózisonál (30 mg/kg) már enyhe csökkenést mutattak és maximális gátló hatásukat a 10 mg/kg-os koncentrációnál érték el (54,1% és 74,2%). Ezzel szemben az AMG9810 maximális gátló hatását a 30 mg/kg dózisban fejtette ki, amely 60,3% volt.

**3. A plantáris bőr-izom incízió okozta hőküszöbcsökkenés gátlása:** Az alkalmazott antagonisták mindegyike dóziszfüggően gátolta a sebészi incízió következtében kialakult küszöbcsökkenést 3-30



mg/kg p.o. dózisban. A minimális hatékony dózis SB705498 esetében 10 mg/kg, míg a BCTC és az AMG9810 egyaránt 3 mg/kg volt. A maximális gátló hatás SB705498-nál 40,5%, BCTC esetében 52,9%, és 84,4% volt az AMG9810 antagonistánál.

**4. TRPV1 antagonisták hatásai az RTX által kiváltott latenciaidő-csökkenésre:** A lábon mért alap elhárító reakció latenciája  $11,03 \pm 0,3$  s volt, amely az i.pl. adott RTX injekció (0,06  $\mu$ g) hatására  $4,38 \pm 0,3$  s-ra csökkent. Az 1 órával az RTX kezelés előtt p. o. beadott antagonisták mindegyike antihyperalgiás hatással rendelkezett. Bár meghosszabították az elhárító reakció latenciáját, szignifikáns különbséget csak a legnagyobb alkalmazott dózis beadásakor detektáltunk, ekkor a gátlás SB705498, BCTC és AMG9810 esetében 43%, 38% és 37% volt.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

Elsőként szolgáltatunk összehasonlító adatokat különböző gyógyszercégek által kifejlesztett három TRPV1 antagonisták hatásairól, új fájdalom hőküszöbmérő és a tradicionális elhárító reakciók latenciájának mérésén alapuló módszerekkel. Eredményeink alapján elmondható, hogy a nociceptív hőküszöb csökkenés megvalósulhat direkt TRPV1 receptor aktiváción keresztül, enyhe hőtrauma alkalmazásával vagy sebészi incíziót követően, mely jól mérhető, nagyfokú érzékenységet mutat a vizsgált TRPV1 antagonisták mindegyikével szemben.

Az általunk kidolgozott hőküszöbmérő módszerrel mindhárom tesztelt antagonisták esetében 30-szor kisebb volt a minimális effektív dózis, összehasonlítva a tradicionális latenciaidő mérő teszttel (Hargreaves és mtsai. 1988) kapott eredményekkel, melyek további bizonyítékot szolgáltatnak módszerünk érzékenységére.

## **III. A TRPV1 ÉS TRPA1 RECEPTOROK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA KÜLÖNBÖZŐ FÁJDALOM MODELLEKBEN RECEPTOR GÉNHIÁNYOS EGEREK FELHASZNÁLÁSÁVAL**

A TRPV1 receptor szerkezetének pontosabb megismerésére a receptor klónozása adott lehetőséget, melynek segítségével derült fény arra, hogy a receptort a fájdalom hőingerek és az alacsony pH közvetlenül képes aktiválni, valamint, hogy központi szerepet játszik a nociceptort érő fájdalom stimulusok integrálásában is (Caterina és mtsai. 1997; Tominaga és mtsai. 1998). A gyulladással járó folyamatokban betöltött szerepének részletesebb tanulmányozása akkor vált lehetővé, amikor 2000-ben két kutatócsoport egymástól függetlenül TRPV1 receptor génhiányos egereket állított elő (Caterina és mtsai. 2000; Davis és mtsai. 2000).

A TRPA1 receptort már 1999-ben klónozták (Jaquemar és mtsai. 1999), ennek ellenére neuronokon való expresszáldását csak 2003-ban közölték (Story és mtsai. 2003), akik a receptort, a fájdalom intenzitású hideg ingerek szenzoraként azonosították. Az egyik elsőként TRPV1 génhiányos egereken elvégzett kísérletben megállapították, hogy a receptor esszenciális termális hyperalgiában (Davis és

mtsai. 2000), azonban szerepe az alap hőérzékelésben nem tisztázott (Caterina és mtsai. 2000). Ezt erősítik kutatócsoportunk korábbi eredményei is, melyekben a TRPV1 génkiütött egerek nociceptív hőküszöbe nem különbözött a vad típusúakétól (Almási és mtsai. 2003), azonban TRPV1<sup>-/-</sup> állatokban szignifikánsan kisebb mértékű volt a hőtraumával kiváltott termális és mechanikai hiperalgémia mértéke (Böleskei és mtsai. 2005).

A mustárolajat (allil-izotiacianát, AITC) korábban a TRPA1 receptor szelektív exogén agonistájaként tartották számon (Jorgt és mtsai. 2004), azonban szelektivitása megkérdőjelezhető, mivel feltehetően szerepet játszik a TRPV1 receptor aktivációjában is (Gees és mtsai. 2013, Everaerts és mtsai. 2011).

Egereken egyenletesen emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel végzett lábon mért nociceptív hőküszöb-vizsgálatok nem ismertek az irodalomban. Mivel az egerek rosszul tűrik a kézben tartást, továbbá a relatív kisméretű lábon a mérés nehézkes, ezért figyelmünk központjába az egérfarok vizsgálata került. Kísérleteink során az intézetünkben fejlesztett emelkedő hőmérsékletű vízfürdőt egy egérkaloda alkalmazásával alkalmassá tettük az egerek farkán mért nociceptív hőküszöb vizsgálatokra.

## **MÓDSZEREK**

**1. Módszerfejlesztés és az alap (kontroll) hőküszöb vizsgálata:** Az előkísérleteket hím CD1 állattörzsbe tartozó egereken (25-35g), míg további vizsgálatainkat hím TRPV1 és TRPA1 génhányos egereken és ezek vad típusú megfelelőin végeztük. Az egerek többnyire rosszul tűrik a kézbevételt, ezért a mérések standardizálásához egy egérkalodát fejlesztettünk ki, melyeket szellőzőlyukakkal ellátott műanyag csövekből alakítottunk ki. Az állatok behelyezése után a kalodákat egy állványon rögzítettük, úgy hogy a farkuk pont a megfelelő mélységben érjen bele a víztartályba. Pár perc habituáció után megmértük az állatok fájdalmas hőküszöbét, majd a mérést 10 percnél 1 órán keresztül ismételtük két egymást követő napon. Összehasonlításképpen a vizsgált állatok alomtestvéreinek hőküszöb értékeit detektáltuk, úgy, hogy az egereket a vizsgálatot végző személy a kezében tartotta.

**2. Mustárolaj által kiváltott termális hiperalgémia vizsgálata:** A mustárolaj hatására kialakuló hőküszöbcsökkenést a hátsó lábon vagy farkon az emelkedő hőmérsékletű forró lappal vagy vízfürdővel határoztuk meg. A kontroll mérések elvégzése után az állatok lábát 60 s-ig, míg farkát 30 s-ig 1%-os, 30% DMSO-t tartalmazó mustárolajba merítettük, majd a hőküszöb-változást 1 órán keresztül 10 percnél detektáltuk.

**3. Mustárolaj hatására kialakuló mechanikai hiperalgémia vizsgálata:** Az egerek lábán mért érintési érzékenységet dinamikus plantáris észteziométerrel vizsgáltuk. A szoktató és kontroll mérések elvégzése után az egerek egyik hátsó lábát 60 másodpercre 1%-os mustárolajba merítettük, majd 30, 60, 120, 180 perccel később megmértük az állatok mechanonociceptív küszöbét.

**4. Mustárolaj hatására kialakuló akut nocifenzív reakció latenciaidejének vizsgálata:** Az állatok farkát, illetve lábát 1%-os mustárolajba merítettük és az elhárító reakció megjelenéséig eltelt időt

detektáltuk. Elhárító reakciónak a farkok illetve láb erőteljes megrázását tekintettük. A latenciaidő maximális értékét 3 percen határoztuk meg.

## EREDMÉNYEK

**1. Módszerfejlesztés és alap (kontroll) hőküszöb vizsgálata:** Az emelkedő hőmérsékletű vízfürdő módszertani fejlesztésekor egyik mérési pontban sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést az állatok közben tartása, illetve csöbe zárása között. Ugyanakkor, a kaloda alkalmazásával jelentősen csökkent a vizsgálati állatok előkészítésének ideje, ezáltal időegység alatt több állat mérésére nyílt lehetőség. A TRPA1 génhíányos egerekkel szemben, a TRPV1 gént nem expresszáló egerek a farkán szignifikánsan magasabb hőküszöb értéket detektáltunk (TRPV1<sup>-/-</sup>:  $45,42 \pm 0,34^{\circ}\text{C}$ ), mint vad típusú megfelelőiknél (TRPV1<sup>+/+</sup>:  $42,98 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ ), mely különbség egérlábon egyik vizsgált törzsben sem jelentkezett.

**2. Mustárolaj által kiváltott termális hiperalgécia vizsgálata:** TRPV1<sup>+/+</sup> állatok farkon mért fájdalmas hőküszöb értékei 10 perccel a mustárolaj kezelést követően a kiindulási kontroll szintről ( $43,53 \pm 0,33^{\circ}\text{C}$ )  $35,96 \pm 1,23^{\circ}\text{C}$ -ra csökkent. Ezzel szemben a TRPV1 génhíányos egerekben ez a csökkenés szignifikánsan kisebb volt ( $46,05 \pm 0,35^{\circ}\text{C}$ -ról  $40,6 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ -ra), mely különbség (4-6°C) a kísérlet végéig fennmaradt. TRPA1 receptor hiánya illetve megléte esetében közel azonos mértékű hőküszöbcsökkenést detektáltunk az egerek farkán. TRPV1<sup>+/+</sup> és TRPA1<sup>+/+</sup> állatok lábán mért kontroll fájdalomküszöbeinek átlaga ( $44,8 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  és  $45,0 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ), 20 perccel a mustárolaj kezelést követően átlagosan 12-14°C-kal csökkent. A kísérlet végéig fennmaradó csökkenés a TRPA1<sup>-/-</sup> állatok esetében nem, míg a TRPV1 génhíányos egereknél szignifikánsan kisebb volt vad típusú megfelelőikhez képest.

**3. Mustárolaj által kiváltott mechanikai hiperalgécia meghatározása:** A mustárolaj kezelés után 30 perccel a vad típusú állatoknál 45-55%-os mechanonociceptív küszöbcsökkenést detektáltunk. Ez a csökkenés, mely a kísérlet végéig fennmaradt a TRPV1 génhíányos egereknél szignifikánsan kisebb mértékű, 25% körüli volt. TRPA1 génhíányos egereknél illetve vad típusú megfelelőiknél a kialakult mechanikai hiperalgécia mértéke közel azonos volt.

**4. Mustárolaj által kiváltott akut nocifenzív reakció:** A TRPV1<sup>+/+</sup> állatok farkán mért elhárító reakció megjelenéséig eltelt idő  $103 \pm 14$  s volt a mustárolajat nem tartalmazó oldatban, ez szignifikánsan nagyobb volt, mint a mustárolajat tartalmazó oldatban töltött idő ( $48 \pm 5$  s). A TRPV1<sup>-/-</sup> állatok a nocifenzív reakció megjelenéséig mustárolajban töltött ideje szignifikánsan nagyobb volt ( $89 \pm 13$  s). TRPA1<sup>+/+</sup> állatok vizsgálata során, mustárolaj nélküli oldatban  $63 \pm 8$  s töltöttek a nocifenzív reakció megjelenéséig, míg 1%-os mustárolaj oldatban ez az idő szignifikánsan kisebb volt ( $26 \pm 4$  s). A TRPA1<sup>-/-</sup> állatok farkán mustárolajban detektált elhárító reakció megjelenéséig eltelt idő szignifikánsan magasabb volt vad típusú társaikhoz képest ( $82 \pm 13$  s).

## KÖVETKEZTETÉSEK

Az emelkedő hőmérsékletű vízfürdő készülék metodikai továbbfejlesztésével lehetőségünk nyílt az egérfarok vizsgálatára. Alkalmazásával a mérési folyamat illetve az állatok előkészítése gyorsabbá vált, standardizálva ezzel az emberi jelenlétből adódó különbségeket és az állatokat érő stressz mértékét. A kidolgozott új metodika megbízható, gyors, preklinikai szűrőmódszerré válhat. A módosított emelkedő hőmérsékletű vízfürdő és forró lap módszerek alkalmazásával lehetőség nyílik a láb és a fark hőérzékelésének egyidejű összehasonlítására. E módszerek segítségével elsőként szolgáltatunk adatokat arra nézve, hogy TRPV1 génhíányos egerek farkán mérve szignifikánsan magasabb hőküszöbértékek detektálhatók, mint vad típusú társaiknál, míg a lábon hot plate-tel mérve nem tapasztaltunk különbséget.

Ezek alapján feltételezhető, hogy az egerek hőérzékelésében a fark nagyobb relevanciával bír, mint a láb, illetve az egyes testtájak feltehetően eltérő receptor denzitással jellemezhetők.

Kísérleteinkben a kidolgozott gyulladós hiperalgémia modell megbízhatónak bizonyult, ugyanakkor a TRPA1 génhíányos egerekben és vad típusú kontrolljaikban a mustárolaj által kiváltott gyulladós hiperalgémia mind a farkon, mind pedig a lábon ugyanakkora mértékű volt. Ezek alapján arra következtethetünk, hogy bár a mustárolaj számos rendszerben aktiválja a TRPA1 receptort, esetünkben csak a mustárolaj kiváltotta nocifenzív viselkedésben játszott szerepet. A mustárolaj a TRPV1 génhíányos egerekben is indukált testtájtól függetlenül gyulladós (termális és mechanikai) hiperalgémiát, bár kisebb mértékűt, mint vad típusú megfelelőiknél. Ennek oka, hogy más, még nem azonosított elemek is szerepet játszhatnak kialakulásának mechanizmusában, illetve hogy a mustárolaj nem szelektív a TRPA1 receptorra nézve, hanem a TRPV1 receptort is aktiválhatja.

## IV. KOMPLEX REGIONÁLIS FÁJDALOM SZINDRÓMA (CRPS) PASSZÍV TRANSZFER-TRAUMA EGÉRMODELLJE

A neurogén gyulladós mechanizmusok fontos szerepet játszanak számos krónikus, perzisztáló fájdalommal járó gyulladós kórképben, pl. rheumatoid artritiszben (Levine és mtsai. 1986), így feltételezésünk szerint a **Komplex Regionális Fájdalom Szindróma** (Complex Regional Pain Syndrom: CRPS) kialakulásában is. Sem a betegség etiológiája sem pedig pontos patofiziológiai mechanizmusai nem ismertek. Hátterében kisebb sérülés (rándulás, ficam, törés) hatására az érzőideg végződésekből felszabaduló antigének elleni túlzott immunválaszt és összetett neuro-immun interakciókat valószínűsítünk (Blaes és mtsai. 2007). A tünetek az esetek egy részében spontán gyógyulnak, azonban nagyobb részüknél fokozódnak és hosszan, akár hónapokig, sőt évekig fennmaradó perzisztáló intenzív fájdalomállapot alakul ki. A korábban néhány páciensnél alkalmazott plazmaferézis hatékonynak bizonyult, mely az autoantitestek által mediált immunreakciók lehetséges szerepére utalnak (Goebel és mtsai. 2010, 2011, Kohr és mtsai. 2011, Marinus és mtsai. 2011). A

patogén autoantitestek által okozott megbetegedések vizsgálatára alkalmazható egyik módszer a humán vérszérumok tisztított IgG frakcióinak intraperitoneális beadása rágszálókba (passzív transzfer).

## **MÓDSZEREK**

**Vizsgálati alanyok és kísérleti protokoll:** Kísérleteinkben dr. Andreas Goebel által küldött 6 CRPS szindrómában szenvedő páciens és 6 egészséges önkéntes szérumaiból tisztított IgG frakciót vizsgáltuk az általunk kidolgozott egérmodell kísérleti paradigmájában. A kiválasztott 6 beteg mindegyike esetén a 12 hónapnál régebben fennálló tüneteik kielégítették az IASP által elfogadott CRPS diagnosztikus kritériumait (Harden és mtsai. 2010), perzisztáló fájdalmaik intenzitása 5 vagy annál magasabb volt a numerikus fájdalom-mérő skálán (0-10), nem szenvedtek más krónikus fájdalommal vagy gyulladással járó megbetegedésben, illetve a Walton Pain Center gondozása alatt álltak minimum egy éve. Egészséges önkénteseknek a páciensekkel megegyező korú és nemű ( $\pm 10$  év) alanyokat választottunk, akik nem szenvedtek semmilyen krónikus fájdalommal járó kórképben és elsőfokú rokonaik között nem volt autoimmun beteg.

6 CRPS beteg véréből származó tisztított IgG frakciót adtunk be i. p. az állatoknak (5-7 egér/csoport/páciens). A kontroll egerek csoportjai egészséges önkéntesekből származó tisztított IgG-t vagy fiziológiás sóoldatot kaptak. A beadott egészséges és CRPS-ben szenvedő betegekből származó IgG-k koncentrációi megegyeztek. A kontroll mérések elvégzése után a kezeléseket a -1., 0. illetve az 5. és 6. napokon alkalmaztuk i.p. injekció formájában napi kétszer. Minden egér összesen 6 ml IgG szérumot, illetve fiziológiás sóoldatot kapott (reggelente 1ml, és késő délután 0,5 ml minden kezelési napon). A kísérlet 0. napjának az egérre adaptált talpbőr-izom incízió (Banick és mtsai. 2006, Pogatzki-Zahn és mtsai. 2007) műtét idejét tekintettük. A kísérlet 8. napja alatt mértük a mechanikai érzékenységet (fájdalomküszöböt) dinamikus plantáris észteziométerrel, a lábterfogatot pletizmométerrel, a hideg érzékenységet a 0°C-os vízből való végtagkihúzás latenciáidejének detektálásával, a spontán lokomotoros aktivitást open field teszttel, a mozgáskoordinációt RotaRod kerékkel, továbbá a talphőmérsékletet kontakthőmérővel-, ill. a testsúlyt. A kísérlet 8. napján az állatokat túlaltattuk, a hátsó végtagokat a tibio-tarzális ízületekkel együtt eltávolítottuk és -80°C-on tároltuk a szövetek neuropeptid és citokin koncentrációinak meghatározásáig.

**1. Érintési érzékenység vizsgálata:** A CRPS egyik leggyakoribb klinikai tünete a fájdalom és a mechanikai hiperalgészia. A talpbőr érintési érzékenységének vizsgálatára a korábban már bemutatott dinamikus plantáris észteziométert használtuk. A méréseket a passzív-transzfer kezelés előtt és az 1., 2., 3., 7. és a 8. napokon végeztük.

**2. Lábtérfogató mérés:** Mivel a CRPS másik meghatározó klinikai tünete az érintett végtagok erőteljes duzzadása, kísérleteinkben a láb térfogatójának változásait pletizmométerrel vizsgáltuk a passzív-transzfer kezelés előtt (kontroll) és 1., 2., 3., 7. és a 8. napon.

**3. Hő- és hidegérzékenység:** Mind a hő, mind a hideg hiperalgéria/allodínia a CRPS-ben szenvedő páciensek közel egyharmadát érinti. A korábban már bemutatott emelkedő hőmérsékletű forró lappal vizsgáltuk az állatok fájdalmas hőküszöbét a műtét előtt, valamint az 1., 2., 3., 7. és 8. napokon. A hideg érzékenység meghatározásához az egerek érintett végtagját 0°C-os (jeges) vízbe merítettük és az elhárító reakció latenciaidejét detektáltuk a kezelések előtt, illetve a 3., 7. és 8. napokon.

**4. Spontán súlyeloszlás vizsgálata:** A hátsó végtagok spontán súlyeloszlásának vizsgálatát a kontroll mérések elvégzése után a kísérlet 1, 2, 3, 7 és 8. napján végeztük.

**5. Spontán lokomotoros aktivitás:** Spontán lokomotoros aktivitás mérésére open field tesztet alkalmaztunk. A méréseket a kísérlet 0. és 6. napján végeztük.

**6. Motoros koordináció:** A motoros funkció és a koordináció vizsgálatát RotaRod készülékkel vizsgáltuk a kísérlet 0. és 6. napján. A forgó henger sebessége az első 10 másodpercben konstans 4 rpm volt, majd 5 perc alatt 40 rpm-re gyorsult fel.

**7. Talphőmérséklet meghatározása és a testtömeg monitorozása:** A talp hőmérsékletét kontakthőmérővel mértük meg a kísérlet 7. napján. Az állatok testsúlyát a kísérlet minden napján azonos időben detektáltuk.

**8. Gyulladásos neuropeptidok és citokinek meghatározása szövet-homogenizátumokból:** Az összes funkcionális teszt elvégzése után a kísérlet 8. napján az egereken ketamin-xilazin altatás alatt cervikális dislokációt végeztünk. Ezt követően mindkét hátsó lábat lemetsztük a tibiotarzális ízülettel együtt, majd az ujjakat eltávolítottuk és a mintákat steril foszfát pufferben homogenizáltuk. A CGRP- és SP- szerű immunreaktivitás mérésére rádióimmunszé (RIA) módszert alkalmaztunk, míg a vérminták IL-6 illetve IL1-béta szintjét Luminex® 100™ x MAP módszerrel határoztuk meg a gyártó cég ajánlása szerint.

## **EREDMÉNYEK**

**1. Mechanikai hiperalgéria:** A műtött lábon az operációt megelőzően mért mechanonociceptív küszöbök átlagai között nem volt szignifikáns különbség, ugyanakkor az elvégzett talp bőr-izom incízió 45-50%-kal csökkentette a küszöbértéket az 1. napon mindhárom csoportban. A fiziológias sóoldattal kezelt kontroll csoportban a mechanikai hiperalgéria  $16,01 \pm 2,24$  % -ra mérséklődött a műtétet 3. napra, majd később ez utóbbi szinten állandósult. A 7. napon szignifikánsan nagyobb mechanikai küszöbcsökkenést detektáltunk a CRPS IgG-vel kezelt állatcsoportban az egészséges IgG-vel kezelt állatokhoz képest.

**2 Lábduzzadás:** Az operációt megelőzően mért lábtérfogató-értékek átlaga mindhárom csoportban közel megegyezett. A plantáris incíziót követő 1. napon a lábduzzadás  $20,56 \pm 2,52$  % volt a fiziológias sóoldattal kezelt csoportban, majd a 7. napig fokozatosan csökkent  $10,52 \pm 1,83$  % -ra. A CRPS betegekből származó IgG-vel kezelt csoportban a 2. napon mért átlag lábtérfogató  $32,3 \pm 1,8$  % volt, mely 45 %-kal magasabbnak bizonyult az egészséges IgG-vel kezelt állatok lábtérfogató értékénél.

**3. Hő- és hideghiperalgéria:** A termonociceptív hőküszöböt emelkedő hőmérsékletű forró lappal határoztuk meg kísérleteink első két sorozatában, azonban szignifikáns változásokat nem találtunk az egyes csoportok között. Helyette később a hidegérzékenységet vizsgáltuk. A kialakuló hideg hiperalgéria a kísérlet elejétől a 8. napig mindhárom csoportban fennállt, azonban az egyes csoportok között szignifikáns különbség nem volt.

**4. Spontán súlyeloszlás:** Mivel a 3. napon mindhárom csoportban a műtött oldali terhelésben csak kismértékű, de nem szignifikáns csökkenést detektáltunk, az első két sorozat után ezen méréseket nem folytattuk.

**5. Spontán lokomotoros aktivitás és motoros koordináció:** A 0. és 6. napon meghatározott spontán lokomotoros aktivitást a keresztezett mezők és az ágaskodások száma, a vizsgálati mező közepén tartzkodás ideje, illetve a mozgással és mosakodással töltött idő alapján értékeltük, azonban egyik paraméterben sem volt szignifikáns eltérés. A kísérlet 0. napján RotaRod készülékkel elvégzett motoros koordinációs mérésekben sem találtunk szignifikáns különbséget az egyes csoportok között.

**6. Talphőmérséklet és a testsúly változása:** Nem találtunk szignifikáns különbséget sem a műtött lábon mért talphőmérsékletek abszolút értékeinek átlagaiban, sem pedig a 7. napon mért átlag talphőmérséklet különbségekben egyik vizsgált csoportban sem. A kísérletek során mért súlyváltozások nem voltak szignifikánsan különbözőek.

**7. Lábhomogenizátumokban mért gyulladáshoz kapcsolódó neuropeptidok és citokinek koncentrációja:** 8. napon kivett mintákban nagymértékben megemelkedett a SP koncentráció mindhárom csoportban a kontroll lábhoz viszonyítva, ugyanakkor a műtött lábból mért a SP koncentráció a CRPS IgG-vel kezelt csoportban szignifikánsan magasabb volt az egészséges IgG-vel kezelt állatokhoz képest. Ezzel szemben a CGRP immunoreaktivitás nem változott sem az incízió, sem pedig az IgG kezelése hatására. Az IL-1 $\beta$ , IL-6 illetve TNF- $\alpha$  koncentrációi nem különböztek az egyes kezelési csoportok között.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

Elsőként igazoltuk, hogy mikrosérülést követően kialakuló CRPS legjelentősebb klinikai tünetei (perzisztáló fájdalom/hiperalgéria, ödéma) a betegek tisztított IgG frakcióival, passzív transzferrel átvihetők egerekbe. A betegek többsége viszonylag hamar spontán gyógyul, míg az esetek körülbelül 15 %-ban a tünetek krónikussá válnak (Birklein és mtsai. 2004, de MM és mtsai. 2009), a fájdalom perzisztál, a kezdeti végtag-elváltozások, mint pl. az ödéma, fokozódik. Egérmodellünk is jellemzően ez utóbbi mintázatot követi. A kapott eredmények arra utalnak, hogy a CRPS-es megbetegedésekben az autoantitestek fontos szerepet játszanak. Bár a hideg hiperalgériában az egyes csoportok között nem volt különbség, a mechanikai hiperalgéria súlyosbodott a CRPS- IgG-vel kezelt állatokban. Ennek oka feltehetően az, hogy a centrális szenzitizáció is szerepet játszhat a CRPS IgG által közvetített mechanikai hiperalgéria súlyosságának kialakításában. A humán megbetegedéssel párhuzamban

(Weber és mtsai. 2001) szignifikáns emelkedést tapasztaltunk a gyulladáskeltő szenzoros neuropeptid, a SP, szöveti koncentrációjában a CRPS-kezelést kapott állatok műtött lábában az incízió utáni 8. napon.

Eredményeink legnagyobb jelentősége, hogy elsőként sikerült olyan jól reprodukálható, megbízható egérmódellet kidolgoznunk, amelyben mind a végtag sérülése, mind aspecifikus IgG autoantitestek jelen vannak, a humán betegséghez hasonlóan. Emberi CRPS IgG hatására sikerült kimutatnunk egerekben a legjelentősebb klinikai eltéréseket (fájdalom, duzzadás), a P-anyagot fontos pathofiziológiai tényezőként azonosítottuk. A kapott eredmények klinikai szempontból is meghatározóak, mivel igazolhatják a hosszantartó CRPS egyik fontos terápiás lehetőségét, az autoantitestek plazmaferézissel való eltávolítását. A modell lehetőséget nyújt a betegség pontos mechanizmusainak feltárására kulcsmediátorok és célmolekuláik azonosítására, mely új gyógyszerfejlesztési perspektívákat is nyithat.

## **DOLGOZATBAN BEMUTATOTT ÚJ EREDMÉNYEK TÉTELES ÖSSZEFOGLALÁSA**

1. Kísérleteinkben a két TRPV1 receptor agonista (kapszaicin és RTX) intraplantáris adása után több napon keresztül mindkét hőmérsékleti tartományban meghatároztuk azt a pontos küszöbhőmérsékletet, melynél az állatok nocifenzív reakciót mutattak. A hidegtartományban mért küszöbértékek gyorsabban normalizálódtak a fájdalmas hőküszöb értékeknél. E változások a TRPV1 receptort expresszáló szenzoros neuronok perifériás végződéseinek reverzibilis deszenzibilizációját jelzik, mely felelős a fájdalmas hő, illetve hideg által kiváltott válaszok elmaradásáért. Kis dózisu RTX illetve OLDA adásakor a TRPV1 receptor deszenzibilizálódott, az érzőideg-végződés funkciójának károsodása nélkül, hiszen a TRPA1 receptor agonista formalin képest volt hatást kifejteni. A deszenzibilizáció mindkét típusa nagy jelentőséggel bír a periférián ható új típusu analgetikumok kifejlesztése szempontjából. Az idegvégződés deszenzibilizációja a fájdalomcsillapítás terén már kiaknázásra került, viszont az általunk alkalmazott fájdalmas küszöbhőmérséklet mérésen alapuló technika a jövőben új *in vivo* preklinikai szűrő módszerként szolgálhat.

2. Adatokat szolgáltatnunk három TRPV1 antagonistá hatásainak közvetlen összehasonlításáról, új fájdalmas hőküszöbmérő és a tradicionális elhárító reakciók latenciáidejének mérésén alapuló módszerekkel. Eredményeink alapján elmondható, hogy a nociceptív hőküszöbcsökkenés RTX adás, enyhe hőtrauma vagy sebészi talpincízió után TRPV1 receptor aktiváción keresztül valósul meg, mely jól mérhető, nagyfokú érzékenységet mutat a vizsgált TRPV1 antagonistákkal szemben. A nociceptív hőküszöbök vizsgálatára az emelkedő hőmérsékletu vízfürdő megbízhatóan működő, érzékenyebb módszernek bizonyult a hagyományos latenciáidő mérésen alapuló Plantar Test készülékhez képest.

3. Kimutattuk, hogy a farkon mért fájdalmas hőküszöb értékek a TRPV1 génhányos egerekben szignifikánsan magasabbak voltak vad típusu megfelelőikhez képest, míg a talpon nem volt különbség. A korábbi adatokkal ellentétben a TRPV1 receptor szerepet játszik a forró ingerek detektálásában,



legalábbis az egerek farkán. A mustárolajjal kiváltott gyulladásoz termális hiperalgázia a TRPV1 génhányos egerekben mindkét testtájon, míg a mechanikai hiperalgázia csak a lábön csökkent szignifikánsan, azonban TRPA1 receptor hiánya esetén egyik testtájön sem detektáltunk különbséget. Az akut nocifenzív reakció latenciaidejének vizsgálata során TRPA1 és a TRPV1 génhányos egerek is később mutattak elhárító reakcióz vad típusú társaikhoz képest. Ezek alapján feltételezhető, hogy a TRPA1 agonista mustárolaj nem szelektív a TRPA1 receptorra, hanem a TRPV1 receptort is képes aktiválni. Ez utóbbi mechanizmus közvetítheti a gyulladásoz hiperalgáziát és szerepet játszhat a nocifenzív reakcióban is.

4. Elsőként dolgoztunk ki egy megbízható passzív-transzfer-trauma modellt CRPS vizsgálatára, melyben a páciensekből származó tisztított szérüm IgG intraperitoneális kezelésével váltottuk ki egerekben a humán megbetegedés legfontosabb klinikai tüneteit. Eredményeink igazolták az IgG antitestek meghatározó szerepét a CRPS pathomechanizmusában. Egérmodellünk lehetőséget teremt a folyamatok kísérletes vizsgálatára, kulcsmediátorok és célmolekuláig azonosítására, amely új gyógyszerek kifejlesztéséhez is segítséget nyújthat.

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Köszönöm témavezetőimnek, dr. Helyes Zsuzsanna és dr. Pethő Gábor professzoroknak, hogy bevezettek a kutatás világába, szakmai felkészültségükkel, lelkesedésükkel és precizitásukkal mutatva jó és követendő példát. Köszönettel tartozom dr. Bölcskei Katának, akihez mind a kísérletes munka során, mind pedig az értekezés készítésekor mindig bizalommal fordulhattam. Hálával tartozom dr. Pintér Erika és dr. Szolcsányi János professzoroknak, akik rendkívül magasszintű szakmai tanácsaikkal folyamatosan segítették munkámat. Köszönöm „szobatársaimnak” dr. Borbély Évának és dr. Hajna Zsófiának, hogy barátságukkal, lelkesedésükkel és szakmai tanácsaikkal folyamatosan inspiráltak és jobb teljesítményre ösztökéltek. Köszönöm a kísérletek során nyújtott nélkülözhetetlen segítséget Önböliné Dóranak, Góglné Katinak, Zádor Csillának, Bagoly Teréznek, Zöldhegyi Máriának, dr. Scheich Bálintnak, dr. Markovics Adriennek, dr. Kemény Ágnesnek, dr. Botz Bálintnak, Boros Melindának és diákköröseimnek Horváth Ádámnak és Kóger Tamásnak. Köszönöm dr. Andreas Goebelnek a komplex regionális fájdalom szindrómával kapcsolatos kooperációt.

Köszönöm a „volt Richteresez” kollegáimnak dr. Szőke Évának, dr. Sándor Zoltánnak, dr. Tóth Dániel Mártonnak és dr. Dézsi Lászlónak, hogy mindig számíthattam szakmai tanácsaikra.

Továbbá köszönettel tartozom a Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézet összes munkatársának. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családom támogatását, férjem türelmét és mindazt a szeretetet, amit tőlük kaptam.

## IRODALOM

- Almási R**, Pethő G, Bölcskei K, Szolcsányi J. (2003).. *Br. J. Pharmacol.* 139, 49–58.
- Bandell M**, Story GM, Hwang SW, Viswanath V, Eid SR, Petrus MJ, Earley TJ, Patapoutian A. (2004). *Neuron* 41: 849–857.
- Bautista DM**, Jordt SE, Nikai T, Tsuruda PR, Read AJ, Poblete J, Yamoah EN, Basbaum AI, Julius D. (2006.) *Cell.* 24;124(6):1269-82.
- Bessac BF**, Sivula M, von Hehn CA, Escalera J, Cohn L, Jordt SE. (2008b). *J Clin Invest* 118: 1899–1910.
- Bevan S**, Szolcsányi J. (1990). *Trends in Pharmacological Sciences* 11: 330-333.
- Birklein F**, Riedl B, Sieweke N, Weber M, Neundorfer B. (2000/4). *Acta NeurolScand*; 101(4):262-269.
- Blaes F**, Tschernatsch M, Braeu ME, Matz O, Schmitz K, Nascimento D, Kaps M, Birklein F. (2007). *Ann N Y Acad Sci.* 1107:168-73.
- Brederson JD**, Kym PR, Szallasi A. (2013). *Eur J Pharmacol.* 716 (1-3):61-76.
- Bölcskei K**, Helyes Z, Szabó A, Sándor K, Elekes K, Németh J, Almási R, Pintér E, Pethő G, Szolcsányi J. (2005 *Pain.* 117(3):368-376.
- Caterina MJ**, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. (1997). *Nature.* 389: 816-824.
- Caterina MJ**, Leffler A, Malmberg AB, Martin WJ, Trafton J, Petersen-Zeitze KR, Koltzenburg M, Basbaum AI, Julius D. (2000). *Science.* 288, 306–313.
- Chu CJ**, Huang SM, De Petrocellis L, Bisogno T, Ewing SA, Miller JD, Zipkin RE, Daddario N, Appendino G, Di Marzo V, Walker JM. (2003). *J Biol Chem.* 278:13633–9.
- Davis JB**, Gray J, Gunthorpe MJ, Hatcher JP, Davey PT, Overend P, Harries MH, Latchman J, Clapham C, Atkinson K, Hughes SA, Rance K, Grau E, Harper AJ, Pugh PA, Rogers DC, Bingham S, Randall A, Sheardown AS. (2000). *Nature.* 405, 183–187.
- de M Mos**, de Bruijn AG, Huygen FJ, Dieleman JP, Stricker BH, Sturkenboom MC. (2007). *Pain.* 129:12–20.
- Everaerts W**, Gees M, Alpizar YA, Farre R, Leten C, Apetrei A, Dewachter I, van Leuven F, Vennekens R, De Ridder D, Nilius B, Voets T, Talavera K. (2011). *Curr Biol.* 21(4):316-21.
- Fernandes ES**, Russell FA, Spina D, McDougall JJ, Graepel R, Gentry C, Staniland AA, Mountford DM, Keeble JE, Malcangio M, Bevan S, Brain SD. (2011). *Arthritis Rheum.* (3):819-29.
- Füredi R**, Bölcskei K, Szolcsányi J, Pethő G. (2009). *Eur. J. Pharmacol.* 605, 63–67.
- Gees MI**, Alpizar YA, Boonen B, Sanchez A, Everaerts W, Segal A, Xue F, Janssens A, Owsianik G, Nilius B, Voets T, Talavera K. (2013). *Mol Pharmacol.* 84(3):325-34. doi: 10.1124/mol.113.085548.
- Geppetti P**, Nassini R, Materazzi S, Benemei S. (2008). *BJU Int.*;101 Suppl 3:2-6.
- Goebel A**, Baranowski AP, Maurer K, Ghiai A, McCabe C, Ambler G. (2010). *AnnInternMed.* 152(3):152-158.
- Goebel A**, Leite MI, Yang L, Deacon R, Cendan CM, Fox-Lewis A, Vincent A. (2011). *Eur J Pain* 15(5):504 e501-506.
- Gu Q**, Lin RL. (2010). *J Appl Physiol* 108: 891–897.
- Gunthorpe MJ**, Benham CD, Randall A, Davis JB. (2002). *Trends Pharmacol Sci.* 23: 183-191.
- Harden RN**, Bruehl S, Perez RS, Birklein F, Marinus J, Maihofner C, Lubenow T, Buvanendran A, Mackey S, Graciosa J, Mogilevski M, Ramsden C, Chont M, Vattine JJ. (2010). *Pain.* 8; 150 (2):268-274.
- Hargreaves K**, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J. (1988).. *Pain* 32, 77–88.
- Helyes Zs**, Pintér E, Németh J, Szolcsányi J. (2003). *Curr. Med. Chem.* 2: 191-218.
- Holzer P**. (1991). *Pharmacol. Rev.* 43: 143-201.
- Hu H**, Bandell M, Petrus MJ, Zhu MX, Patapoutian A. (2009). *Nat Chem Biol* 5: 183–190.
- Jaquemar D**, Schenker T, Trueb B. (1999). *J Biol Chem.* 274(11):7325-33.
- Jordt SE**, Bautista DM, Chuang HH, McKemy DD, Zygmunt PM, Högestätt ED, Meng ID, Julius D. (2004). *Nature* 427: 260–265.
- Kohr D**, Singh P, Tschernatsch M, Kaps M, Pouokam E, Diener M, Kummer W, Birklein F, Vincent A, Goebel A, Wallukat G, Blaes F. (2011). *Pain.* 152(12):2690-2700.
- Kwan KY**, Allchorne AJ, Vollrath MA, Christensen AP, Zhang DS, Woolf CJ, Corey DP. (2006). *Neuron.* 20;50(2):277-89.
- Levine JD**, Collier DH, Basbaum AI, Moskowitz MA, Helms CA. (1986). *J Rheumatol* 12: 406-11.
- Macpherson LJ**, Hwang SW, Miyamoto T, Dubin AE, Patapoutian A, Story GM. (2006). *Mol. Cell. Neurosci.* 32:335–343.
- Macpherson LJ**, Geierstanger BH, Viswanath V, Bandell M, Eid SR, Hwang S, Patapoutian A. (2005). *Curr. Biol.* 15: 929–934.
- Marinus J**, Moseley GL, Birklein F, Baron R, Maihofner C, Kingery WS, Van Hilten JJ. (2011). *Lancet Neurol.* 10(7):637-648.
- McNamara CR**, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, Hayward NJ, Chong JA, Julius D, Moran MM, Fanger CM. (2007). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104(33):13525-30.

- Miyamoto R**, Otsuguro K, Ito S. (2011). *Neurosci Lett.* 499(2):137-42.
- Moriyama T**, Higashi T, Togashi K, Iida T, Segi E, Sugimoto Y, Tominaga T, Narumiya S, Tominaga M. (2005). *Mol. Pain* 1, 3.
- Nagata K**, Duggan A, Kumar G, García-Añoveros J. (2005). *J. Neurosci.* 25(16):4052-61.
- Obata K**, Katsura H, Mizushima T, Yamanaka H, Kobayashi K, Dai Y, Fukuoka T, Tokunaga A, Tominaga M, Noguchi K. (2005). *J. Clin. Invest.* 115(9):2393-401.
- Pingle SC**, Matta JA, Ahern GP. (2007). *Handbook of Experimental Pharmacolog.* 179:155-171.
- Sawada Y**, Hosokawa H, Matsumura K, Kobayashi S. (2008). *Eur J Neurosci.* 27(5):1131-42.
- Story GM**, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, Hergarden AC, Andersson DA, OHwang SW, McIntyre P, Jegla T, Bevan S, Patapoutian A. (2003). *Cell.* 112:819-29.
- Szallasi A**, Szabó T, Bíró T, Modarres S, Blumberg PM, Krause JE, Cortright DN, Appendino G. (1999). *Br J Pharmacol.* 128(2):428-34.
- Szallasi A**, Joo F, Blumberg PM. (1989). *Brain Res.* 503(1):68-72.
- Szolcsányi J**, Sándor Z, Petho G, Varga A, Bölcskei K, Almási R, Riedl Z, Hajos G, Czéh G. (2004). *Neurosci Letter.* 361:155-8.
- Szolcsányi J**, Helyes Zs, Oroszi G, Németh J, Pintér E. (1998a). *British Journal of Pharmacology.* 123: 936-942.
- Szolcsányi J**, Pintér E, Helyes Zs, Oroszi G, Németh J. (1998b). *British Journal of Pharmacology* 125: 916-922.
- Szolcsányi J.** (1993). *London: Academic Press.* p. 1-26.
- Szolcsányi J.** (1988). *Agents Actions.* 23: 4-11.
- Szolcsányi J.** (1987). *J Physiol (Lond).* 388:9-23.
- Szolcsányi J.** (1984a.) pp. 7-26, *Akadémiai Kiadó*, Budapest.
- Szolcsányi J.** (1984b). eds: Chahl LA, Szolcsányi J, Lembeck F), pp. 27-53, *Akadémiai Kiadó*, Budapest.
- Szolcsányi J**, Jancsó-Gábor A. (1975). *Arzneimittelforschung.* 25: 1877-1881.
- Taylor-Clark TE**, Udem BJ, Macglashan DW Jr, Ghatta S, Carr MJ, McAlexander MA. (2008). *Mol Pharmacol* 73: 274-281.
- Tominaga M**, Caterina MJ, MalMBERG AB, Rosen TA, Gilbert H, Skinner K, Raumann, B.E., Basbaum, A.I., Julius, D. (1998). *Neuron.* 21:531-543.
- Trevisani M**, Siemens J, Materazzi S, Bautista DM, Nassini R, Campi B, Imamachi N, Andrè E, Patacchini R, Cottrell GS, Gatti R, Basbaum AI, Bunnnett NW, Julius D, Geppetti P. (2007). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:13519-13524.
- Weber M**, Birklein F, Neundorfer B, Schmelz M. (2001). *Pain.* 91(3):251-257.

## **Publikációs lista**

### **Értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények:**

**Valéria Tékus**, Zsófia Hajna, Éva Borbély, Adrienn Markovics, Teréz Bagoly, János Szolcsányi, Victoria Thompson, Ágnes Kemény, Zsuzsanna Helyes, Andreas Goebel: A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with Complex Regional Pain Syndrome. *Pain*. 2014 Feb; 155 (2):299-308. doi: 10.1016/j.pain.2013.10.011. Epub 2013 Oct 18. (IF:5,644)

**Tékus V.**, Bölcsei K., Kis-Varga A., Dézsi L., Szentirmay E., Visegrády A., Horváth C., Szolcsányi J., Pethő G.: Effect of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptor antagonist compounds SB705498, BCTC and AMG9810 in rat models of thermal hyperalgesia measured with an increasing-temperature water bath. *Eur. J. Pharmacol.* 641(2-3), 2010, 135-141. (IF: 2.737 FC:4)

Bölcsei K., **Tékus V.**, Dézsi L., Szolcsányi J., Pethő G.: Antinociceptive desensitizing actions of TRPV1 receptor agonists capsaicin, resiniferatoxin and N-oleoyldopamine as measured by determination of the noxious heat and cold thresholds in the rat. *Eur. J. Pain* 14 (5), 2010, 480-486. (IF:3.819 FC:3) (megosztott első szerző)

**Az értekezés alapját képező publikációk kumulatív impact faktora: 12,2**  
**Független citációk száma: 7**

### **Egyéb teljes közlemények:**

de Oliveira C, Garami A, Lehto SG, Pakai E, **Tekus V**, Pohoczky K, Youngblood BD, Wang W, Kort ME, Kym PR, Pinter E, Gavva NR, Romanovsky AA.: Transient receptor potential channel ankyrin-1 is not a cold sensor for autonomic thermoregulation in rodents. *J. Neurosci.* 2014 Mar 26;34 (13):4445-52. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5387-13.2014. (IF: 7,271; FC:0)

Helyes Zs., Sándor K., Borbély É., **Tékus V.**, Pintér E., Elekes K., Tóth D.M., Szolcsányi J., J.J. McDougall: Involvement of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 receptors in Protease-Activated Receptor 2-induced joint inflammation and nociception. *Eur. J. Pain* 14(4), 2010, 351-358. (IF: 3.819; FC: 7)

Elekes K., Helyes Zs., Kereskai L., Sándor K., Pintér E., Pozsgai G., **Tékus V.**, Bánvölgyi Á., Németh J., Szűts T., Kéri Gy., Szolcsányi J.: Inhibitory effects of synthetic somatostatin receptor subtype 4 agonists on acute and chronic airway inflammation and hyperreactivity in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 578(2-3), 2008, 313-322. (IF:2,787, FC:14)

### **Az értekezés alapját képező konferencia-prezentációk:**

**Valéria Tékus**, Hajna Zsófia, Borbély Éva, Markovics Adrienn, Bagoly Teréz, Szolcsányi János, Thompson Victoria, Kemény Ágnes, Andreas Goebel, Zsuzsanna Helyes: Passive- transfer-trauma model for the Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) in mice II. *Pécs-Oklahoma Szimpózium, Pécs, 2013.* (előadás)

Hajna Zsófia, **Valéria Tékus**, Borbély Éva, Markovics Adrienn, Bagoly Teréz, Szolcsányi János, Thompson Victoria, Kemény Ágnes, Andreas Goebel, Zsuzsanna Helyes: Passive- transfer-trauma model for the Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) in mice *Neuroinflammation Congress, Prága, 2013.* (poszter)

**Valéria Tékus**, Hajna Zsófia, Borbély Éva, Markovics Adrienn, Bagoly Teréz, Szolcsányi János, Thompson Victoria, Kemény Ágnes, Andreas Goebel, Zsuzsanna Helyes: Passive- transfer-trauma model for the Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) in mice. *From Bionics to Medicine 1st European Ph.D. Conference Budapest, 2013.* (poszter)

**Tékus Valéria**, Kóger Tamás, Scheich Bálint, Hajna Zsófia Pintér, Erika, Szolcsányi János, Helyes Zsuzsanna: A Tranziens Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) ioncsatorna szerepe fájdalomérző folyamatokban *Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Budapest, 2013.* (előadás)

Zsuzsanna Helyes, **Valéria Tékus**, Hajna Zsófia, Borbély Éva, Markovics Adrienn, Bagoly Teréz, Szolcsányi János, Thompson Victoria, Kemény Ágnes, Andreas Goebel: A komplex regionális fájdalom szindróma (CRPS) passzív transzfer-trauma egérmodellje. *Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Budapest, 2013.* (poszter)

**Valéria Tékus**, Tamás Kóger, Bálint Scheich, Zsófia Hajna, Éva Borbély, Erika Pintér, János Szolcsányi, Zsuzsanna Helyes: Role of the Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) ion channel in nociceptive processes. *10th Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and the Summer Neuropeptide Conference, Gdynia 2013.* (poszter)

**Valéria Tékus**, Bálint Scheich, Tamás Kóger, Ádám Horváth, Zsófia Hajna, Éva Borbély, Erika Pintér, János Szolcsányi, Zsuzsanna Helyes: Role of Transient Receptor Ankyrin 1 (TRPA1) ion channel in nociceptive processes. *Magyar Idegtudományi Társaság XIV. Konferenciája, 2013. Budapest* (poszter)

**Tékus V.**, Helyes Z., Hajna Z., Horváth Á., Kun J., Bölcskei K., Pintér E., Szolcsányi J.: Transient Receptor Potential Vanilloid (TRPV1), but not Ankyrin 1 (TRPA1) ion channels mediate mustard oil-induced hyperalgesia in mice. *I. International Doctoral Workshop of Natural Sciences 2012. Pécs* (előadás)

**Tékus, V**, Hajna, Z, Horváth, A, Kun J, Bölcskei, K, Szolcsányi, J and Helyes Z. : Role of the Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Ankyrin 1 (TRPV1 and TRPA1) ion channels in thermnociception in mice. *IBRO International Workshop 2012. Szeged, Hungary* (poszter)

**Tékus, V**, Helyes Z., Hajna, Z, Horváth, A, Kun J, Bölcskei, K, Pintér E. Szolcsányi, J: Involvement of Transient Receptor Vanilloid 1 (TRPV1) but not Ankyrin 1 (TRPA1) ion channels in mustard oil-induced hyperalgesia in the mouse. *9th Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and the Summer Neuropeptide Conference, London 2012.* (poszter)

Bölcskei Kata, **Tékus Valéria**, Pethő Gábor, Szolcsányi János: A termnocicepció új állatkísérletes vizsgálómódszerei: a magatartási nociceptív hőküszöb mérése. *Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012.* (előadás)

**Valéria Tékus**, Kata Bölcskei, Ágnes Kis-Varga, László Dézsi, Csilla Horváth, Gábor Pethő, János Szolcsányi: Antihyperalgesic effect of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1) receptor antagonists SB705498, BCTC, AMG9810 in the rat measured with an increasing-temperature water bath. *IBRO International Workshop, Pécs, 2010.* (poszter)

Gábor Pethő, Kata Bölcskei, **Valéria Tékus**, Ágnes Kis-Varga, László Dézsi, Csilla Horváth, János Szolcsányi: Models for screening in rats the effects of TRPV1 receptor antagonists on thermal hyperalgesia and thermoregulation. *WorldPharma, Copenhagen, 2010.* (poszter)

**Valéria Tékus**, Kata Bölcskei, László Dézsi, János Szolcsányi: Effects of the TRPV1 receptor antagonists SB705498, BCTC, AMG9810 in rat models of thermal hyperalgesia using noxious heat threshold measurements *12th World Congress of Pain, Glasgow, 2008* (poszter)

Dézsi László, Bölcskei Kata, **Tékus Valéria**, Szolcsányi János: Kapszaicin (TRPV1) receptor blokkolók hatása a nociceptív hőküszöbre patkány termális hiperalgézia modellekben *Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, 2008. Zalakaros* (előadás)

Dézsi László, Bölcskei Kata, Sándor Zoltán, **Tékus Valéria**, Szőke Éva, Tóth Dániel Márton és Szolcsányi János: Kísérletes mérési módszerek alkalmazása a fájdalomcsillapítók kutatásában *In: Proc. of BUDAMED '08 14. MATE, 5 MEDING Orvostechnikai Konferencia, 2008. Budapest*

**Valéria Tékus**, Kata Bölcskei, László Dézsi, János Szolcsányi: Effects of the TRPV1 receptor antagonists SB705498, BCTC, AMG9810 in rat models of thermal hyperalgesia using noxious heat threshold measurements *Richter Gedeon Kutatási Fórum, Visegrád 2008.* (poszter)

**Tékus Valéria**, Dézsi László, Bölcskei Kata, Szolcsányi János: TRPV1 receptor antagonisták hatása a fájdalom hőküszöbre patkány termális hiperalgézia modellekben *MKKFT-MÉT Vándorgyűlés, Debrecen 2008.* (poszter)

**Tékus Valéria**, Bölcskei Kata, Tóth Dániel Márton, Dézsi László, Szolcsányi János: Az SB705498 TRPV1 receptor antagonistá vegyület hatásai patkány in vivo nociceptív modellekben. *Magyarországi Fájdalom Társaság Konferenciája, Kecskemét, 2007.* (poszter)

Dézsi László, Bölcskei Kata, **Tékus Valéria**, Tóth Dániel Márton, Horváth Csilla, Pethő Gábor, Szolcsányi János: Kísérleti módszerek kapszaicin érzékenyreceptorok által közvetített fájdalom vizsgálatára. *Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Eger, 2007.* (előadás)

Dézsi László, **Tékus Valéria**, Tóth Dániel Márton, Bölcskei Kata, Horváth Csilla, Pethő Gábor és Szolcsányi János: Nocicepció vizsgálata patkány in vivo modelleken a PTE-RG Analgetikum Kutatólaboratóriumában *Richter Gedeon Kutatási Fórum, Dobogókő, 2007.* (előadás)

#### **Idézhető absztraktok:**

**Tékus, V**, Hajna, Z, Horváth, A, Kun J, Bölcskei, K, Szolcsányi, J and Helyes Z.: Role of the Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Ankyrin 1 (TRPV1 and TRPA1) ion channels in thermnociception in mice *Clinical Neuroscience* 2012; 65: (1). pp.68 (**IF:1.247**)

Scheich B, Kormos V, **Tékus V**, Hajna Z, Gaszner B, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Z: Somatostatin receptor subtype 4 (sst4) plays an inhibitory role in anxiety and depression-like behaviours of mice. *Clinical Neuroscience* 2012; 65: (1). pp.57 (**IF:1.247**)

Pethő G, Bölcskei K, **Tékus V**, Dézsi L, Szolcsányi J. Antinociceptive desensitizing actions of TRPV1 receptor agonists capsaicin, resiniferatoxin and N-oleoyldopamine as measured by determination of the noxious heat and cold thresholds in the rat. *Acta Physiol Hung* 2010; 97:(1) pp. 129-130 (**IF: 0.453**)

Helyes Z, Sandor K, **Tékus V**, Pinter E, Elekes K, Toth DM, Szolcsanyi J, McDougall JJ. Involvement of TRPV1 receptors in protease-activated receptor 2-induced joint inflammation and nociception *NEUROPEPTIDES* 43: (5)451 (2009) (**IF:2.036**)

Helyes Zs., Sándor K., **Tékus V.**, Pintér E., Elekes K., Tóth D.M., Szolcsányi J., J.J. McDougall: Involvement of TRPV1 receptors in protease-activated receptor 2-induced joint inflammation and nociception. Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and Summer Neuropeptide Conference, Salzburg, Austria, 2009 - absztrakt: *Neuropeptides* 43(5), p.451., 2009. (**IF:2.438**)

**Tékus V**, Dézsi L, Bölcskei K, Szolcsányi J.: Effects of TRPV1 receptor antagonists on the noxious heat threshold in rat thermal hyperalgesia models. *Acta Physiol Hung* 96:(1), 2009. p. 68. (**IF: 0.75**)

Tóth DM, Szőke É, Bölcskei K, **Tékus V**, Dézsi L, Sándor Z, Szolcsányi J; Inhibition of the expression of the rat TRPV1 receptor by RNA interference. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a MÉT LXXII. Vándorgyűlése, Debrecen, Magyarország, 2008 (poszter). absztrakt: *Acta Physiol Hung* 2009, 96:(1): p.138 (**IF: 0.75**)

Dézsi L, Laszy J, Kocsis P, Bölcskei K, **Tékus V**, Tarnawa I, Gyertyán I, Szolcsányi J. Hippocampus-dependent learning and cortical spreading depression unaffected by TRPV1 receptor. Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and Summer Neuropeptide Conference, Salzburg, Austria, 2009 - absztrakt: *Neuropeptides* 2009; 43:(5) pp. 450-451 (**IF: 2.036**)

**Az összes publikáció kumulatív impact factor: 26,077**

**Összes független citációk száma: 27**