

**A TRIGEMINÁLIS AKTIVÁCIÓ ÉS SZENZITIZÁCIÓ MECHANIZMUSAI:
BETEKINTÉS A MIGRÉN KÓRÉLETANÁBA**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS



dr. Aczél Timea

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Neurofarmakológia Program
Programvezető: Prof. Dr. Pintér Erika
Témavezető: Dr. Bölcskei Kata

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM ORVOSTUDOMÁNYI KAR
FARMAKOLÓGIAI ÉS FARMAKOTERÁPIAI INTÉZET**

**PÉCS
2022**

BEVEZETÉS

Migrén

A migrén a társadalom jelentős részét sújtó primer fejfájás betegség. A típusos migrénes fejfájás visszatérő, egyoldali, lüktető, görcsös jellegű, melynek intenzitása közésúlyostól nagyon súlyos mértékig terjedhet. Gyakran társul a fejfájáshoz hányinger, hányás, hang- és fényérzékenység. Pontos kórfolyamata továbbra sem tisztázott, így a jelenleg rendelkezésre álló terápiás lehetőségek nem kielégítőek. A leginkább elfogadott elmélet szerint a migrén patomechanizmusának fontos része a trigeminovaskuláris rendszer roham alatti aktivációja és szenzitizációja.¹ Ugyanakkor valószínűsíthetően a migrénre való hajlam kialakulásában a genetikai háttérnek is szerepe van.²

Epidemiológiai adatok szerint a migrén a lakosság 15-20%-át érintheti. A Global Burden of Disease (GBD) egy a főbb betegségek, kockázati tényezők, korlátozott egészségi állapotban leélt éveket feltérképezésére irányuló tanulmány, mely szerint a migrén 2019-ben a harmadik helyen, 15–49 éves nők körében második helyen végzett a depressziós rendellenességeket követve.³ A gyógyszeres terápia nem kielégítő, hiszen a kombinált fájdalomcsillapítók vagy a roham-specifikus migrénellenes szerek, a triptánok, gyakori alkalmazása paradox módon súlyosbíthatja az állapotot, ugyanakkor a profilaxisként alkalmazott kezelések (pl. bizonyos antiepileptikumok és antidepresszánsok) csak részleges enyhülést kínálnak, kellemetlen mellékhatások árán. Számos terápiarezisztens beteg, valamint a súlyos szív- és érrendszeri és gyomor-bélrendszeri mellékhatások miatt azonban nélkülözhetetlen a kezelés további optimalizálása.^{4,5} Új gyógyszercélpontok azonosítása továbbra is szükséges a migrénhez kapcsolt gyógyszerfejlesztés előmozdítása érdekében.

Az 1990-es évek óta a trigeminovaskuláris aktiváció áll a migrén kutatások középpontjában. A trigeminovaskuláris rendszer fontos fájdalomátviteli kapcsolatot biztosít a vaszkuláris és a neuronális elemek között.⁶ Triggerek széles skálája válthat ki migrént, és óriási eltérések vannak az etiológiai tényezők, a klinikai megnyilvánulások és a súlyosság között. Ezért évtizedek óta nagy vita folyik a vaszkuláris és neurogén gyulladáson alapuló mechanizmusok, valamint a perifériás kontra centrális szenzitizációs folyamatok meghatározó fontosságáról. Emellett a genetikai hajlam és a környezeti tényezők közötti kölcsönhatások is fontosnak tűnnek.⁷⁻⁹ Migrénhez köthető a szenzoros neuropeptidok (pl. calcitonin gén-rokon peptid – CGRP és P-anyag – SP) és szerotonin (5-hidroxi-triptamin-5-HT) felszabadulás, neurogén gyulladás, plazmafehérje extravazáció, perifériás és centrális szenzitizáció.^{10,11} A peptidet vagy receptorait blokkoló monoklonális antitestek, valamint a receptor antagonisták klinikai hatékonysága bizonyított. Az újonnan kifejlesztett 5-HT_{1F} receptor agonistákkal egyetemben az elmúlt pár évben számos gyógyszer került engedélyezésre az Egyesült Államok gyógyszerhatósága, a Food and Drug Administration (FDA) által.¹² Bár az említett szerek

hatékonyak és biztonságosnak tűnnek, a hosszú távú CGRP-blokád kockázatát még tisztázni kell.¹² Ezért a kóreltani mechanizmusok pontos klinikai és transzlációs kutatási megközelítéseken keresztüli megértése elengedhetetlen a kulcsfontosságú mediátorok azonosításához és az új terápiás célpontok meghatározásához.

Trigeminovaskuláris rendszer áttekintése

A pszeudounipoláris primer afferensek sejtteste a trigeminális ganglionban (TG) a fájdalomfeldolgozó folyamat első központjában helyezkednek el, amelyen keresztül az extra és intracranialis struktúrákból származó ingerek továbbadódnak a trigeminocervicalis komplexet (TCC) együttesen alkotó agytörzsi trigeminális caudalis mag (TNC) és cervicalis (C1-C2) régiókba. Ezt követően az információ átkerül a harmadrendű thalamocorticalis neuronokhoz.^{13,14} A háromosztátú ideg, három nagy érző ága a nervus ophthalmicus (V1), a nervus maxillaris (V2) és a nervus mandibularis (V3). Ezen idegi beidegzések elhelyezkedése a primer fejfájás és az arcfájdalmak eltérő lokalizációinak hátterében állhat, így például a migrénben a V1 tekinthető a legfontosabbnak, tekintettel a jellegzetes periorbitális fájdalomra. A V1 (a régiók átfedése révén a V2, V3 is kismértékben) gazdagon beidegzi cerebrális kemény agyhártyát. Az elsődleges trigeminus afferensek aktiválása vazóaktív neuropeptidek (pl. CGRP és SP) felszabadulását okozza, így értágulatot, fehérje extravazációt és neurogén gyulladást okoz.^{15,16} Ennek a rendszernek a szenzitizációja felelős lehet a különböző orofaciális fájdalmak és fejfájások, valamint az arc és fejbőr allodíniájának kialakulásáért is. A szenzoros neuronokat a pszeudounipoláris sejtek közé sorolják, amelyek kétágú axonból állnak – az egyik a perifériára, a másik a központi idegrendszer irányába vezet. A ganglionokban található az elsődleges afferensek sejtteste, ami az orofaciális komplexum esetében a trigeminális ganglionban (TG) helyezkednek el.¹⁷ A TG főként primer afferens neuronok és annak sejttesteit burkoló szatellita gliasejtekből áll.¹⁸ A trigeminális ganglionok nociceptív szenzoros neuronjainak jelentős százaléka peptiderg, így különféle neuropeptideket, például tachykinineket (SP és neurokininek) és CGRP-t expresszál.^{19–21} Ezek a neuropeptidek képezik a migrénnel kapcsolatos kutatások fő fókuszát. Neuropeptidek elsődleges szenzoros neuronok perifériás és centrális végződéseiből való felszabadulásuk révén hozzájárulnak a gyulladós folyamatok kialakulásához és a fájdalominger transzmissziójához.^{22,23}

Szenzitizáció, trigeminális aktiváció

Az Nemzetközi Fájdalomkutató Társaság (International Association for the Study of Pain - IASP) a következőképpen definiálja az szenzitizáció, érzékenyítés terminológiáját: „A nociceptív neuronok normál ingerre adott fokozott válasza és/vagy küszöbérték alatti ingerre adott válaszreakció

felerősödése”. Klinikailag ez állhat a hiperalgézia és allodínia mögött. Előbbi esetében egy fájdalmas inger fokozott fájdalomérzetet vált ki, utóbbi során pedig nem fájdalmas stimulus fájdalmat vált ki. A szenzitizációnak két formáját különböztetjük meg, a perifériás és a centralis szenzitizációt, a neurontípus érintettségétől függően. A krónikus migrénben, orofaciális gyulladásban vagy idegsérülésben megjelenő arc és fejbőr allodíniája a háttérben kialakuló a trigeminális szenzitizációra vezethető vissza. Ebben a folyamatban primer afferensek és a másod- vagy harmadrendű talamikus nociceptív neuronok hiperexcitabilitása is szerepet játszik. A krónikus fájdalom háttérében kialakuló szenzitizációt a szinaptikus plaszticitás, az serkentő és gátló neurotranszmitterek közötti egyensúlyhiány, és újabban a glia-neuron interakciók is befolyásolják.^{24,25}

A gliasejtek szerepe a szenzitizációban

A gyulladós folyamatok következtében a TG neuronok hiperexcitabilitása következik be, amit a nem neuronális gliasejtek és makrofágok aktiválódása és citokintermelés követ. A glia sejtek által termelt mediátorok tovább segítik a neuronális szenzitizációt. Ezért a neuron-glia kölcsönhatás megértése fontos az orofaciális fájdalom és a fejfájás kórélettanának feltérképezésében.^{24,26} A glia sejtek a perifériás és központi idegrendszer nem-neuronális sejtjei, amelyek részt vesznek a neuronális mikrokörnyezetet szabályozásában, a neuronális hálózatok táplálásában és szerkezeti fenntartásában és a neuronális ingerlékenység modulálásában. Az oligodendrociták, asztrociták, ependimális és mikroglia sejtek a központi idegrendszer részét képezik, míg a perifériás ganglionok Schwann-sejteket, szatellita gliasejteket és rezidens mikroglia-szerű makrofágokat tartalmaznak.^{27,28}

A szatellita gliasejtek osztoznak az asztrociták legtöbb tulajdonságaiban, például hozzájárulnak az idegsejtek táplálásához és működéséhez, illetve a megfelelő idegi működéshez szükséges környezet fenntartásához. Az asztrocitákhoz hasonlóan normál állapotban a szatellita gliasejtek gliális fibrilláris savas fehérje (GFAP) szintje alacsony. A gyulladás és az idegsérülés ennek a masszív expresszióját okozza. Ezt a jelenséget különböző orofaciális fájdalommodellekben^{13,29}, illetve migrén állatmodelljében is leírták.³⁰ A neuronok és a gliasejtek közötti keresztkapcsolat létrejöttében feltehetően a már említett neuropeptidnek, a CGRP-nek is szerepe van.³¹ A perifériás idegsérülést és gyulladást követő orofaciális allodínia háttérében a szatellita gliasejtekben fokozott P2X7 jelátviteli folyamatok és az emelkedett intracelluláris Ca^{2+} koncentráció is állhat. A megnövekedett intracelluláris Ca^{2+} koncentráció proinflammatorikus citokinek: tumor nekrozis faktor-alfa (TNF α) vagy interleukin 1-béta (IL-1 β) szintéziséhez és felszabadulásához vezetett a szatellita gliasejtekből. Továbbá az IL-1 β kötődve a TG idegsejten levő receptorához, növeli a neuronok excitabilitását.^{31,32}

A mikroglia sejtek a központi idegrendszer fő rezidens immunkompetens sejtjei, amelyek osztoznak a monociták és makrofágok fenotípusos markereiben és jellemzőiben.³³ Az orofaciális gyulladás során a mikroglia sejtek aktiválódása is megfigyelhető, hozzájárulva a hiperszenzitivitás kialakulásához. Az aktivált mikroglia pronociceptív citokineket: TNF α , interleukinok (IL-1 β és IL-18) és agyi eredetű növekedési faktor (BDNF), különböző reaktív molekulákat szabadíthat fel, ezáltal szabályozva a neuronális ingerlékenységet és fájdalom kialakulását.³⁴ Az olyan fehérjéket, mint az ionizált kalciumkötő adaptor molekula-1 (Iba1) és a CD11b, jellemzően a mikrogliasejtek/makrofágok proliferációjának és morfológiai aktivációjának markereiként használják.³³ A TG-ban a rezidens mikroglia-szerű makrofágok mellett kiterjedt makrofág infiltráció is előfordulhat a ideg sérülése és gyulladása következtében.^{24,27}

A tachykinin család

A tachykininek a peptiderg primer afferens neuronokban található neuropeptidek közé tartoznak, amelyeknek fontos szerepük van a neurogén gyulladásban és a nociceptív transzmisszióba.²³ A tachykinin család tagjai az SP és a neurokinin A (NKA), amelyeket a *Tac1*, a neurokinin B (NKB), amelyet a *Tac3*, és a hemokinin-1 (HK-1), amelyet a *Tac4* gén kódol. A három tachykinin fehérje a G-protein kapcsolt neurokinin NK-1, NK-2 és NK-3 receptorokon keresztül fejtik ki hatásaikat.^{35,36} Az NK-1 receptor antagonistákról bebizonyosodott, hogy csökkentik a neuropátiás mechanikai hiperalgéziát és a gyulladásos fájdalmat különböző állatmodellekben.^{37,38} Mindazonáltal humán klinikai vizsgálatok nem tudták bizonyítani e vegyületek fájdalomcsillapító hatását sem migrénben, sem egyéb fájdalomhoz köthető patológias állapotokban.^{39,40}

Hemokinin-1

A *Tac4* gén által kódolt HK-1 felfedezése új kérdéseket vetett fel a tachykinin-kutatásban.⁴¹ A HK-1 a fájdalom és a gyulladásos folyamatok új, alapvető molekulája lehet.⁴² Egyre több információ áll rendelkezésre a *Tac4* gén mRNS expressziójáról mind a perifériás, mind a központi idegrendszerben. Más tachykinin-tagokkal ellentétben a *Tac4* gén viszonylag magas expressziója megfigyelhető a perifériás, nem idegrendszeri szövetekben, például a tüdőben, a lépben, a mellékvesében és az immunsejtekben, mint a B- és T-limfociták-, makrofágok- és dendritikus sejtekben.^{41,43} A HK-1 valamennyi tachykininreceptorhoz, de a legnagyobb affinitással az NK-1 receptorhoz kötődik.⁴⁴ A HK-1-nek azonban különálló, NK-1-független hatásai is megfigyelhetőek.⁴⁵ Ez magyarázható a HK-1 az SP-től eltérő jelátviteli utak aktiválásával, illetve feltételezhetően egy HK-1 számára specifikus receptor létezésével.⁴⁵ Mivel tehát a HK-1 receptoraffinitása nem ismert pontosan, antagonisták nem használhatók a célpont validálására.

A HK-1 intrathecalis vagy intracerebroventricularis beadást követően patkányban/egérben pronociceptív hatást váltott ki.^{46,47} Más vizsgálatokban azonban intracerebroventrikuláris injekciót követően fájdalomcsillapító hatást mutattak ki egerekben.^{48,49} Leírták a *Tac4* mRNS upregulációját a mikrogliaokban lipopoliszacharid stimuláció hatására⁵⁰ és patkány gerincvelő hátsó szarvban komplett Freund adjuvánszal (CFA) kiváltott hátsó láb gyulladás után,⁵¹ ami a neurodegeneratív és neuroinflammatorikus rendellenességekben betöltött lehetséges szerepére utal. Keveset tudunk azonban a *Tac4* génről/HK-1-ről a trigeminovaskuláris rendszerben.

Állatmodellek a trigeminális szenzitizációban

A trigeminális neuronok közvetlen elektromos ingerlése, gyulladásos, algogén anyagok (prostaglandin E2, bradykinin, szerotonin, citokinek) kemény agyhártyára való juttatása, exogén vegyi anyagok (pl. nitroglicerín, PACAP) beadása, agykérgi kúszó depolarizáció indukciója széles választékát képezik a validált fejfájás állatmodelleknek. Az elektrofiziológia, az áramlásmérés és a különböző markerek immunhisztokémiai detektálása mellett viselkedési vizsgálatok is végezhetőek. Ezek olyan migrénszerű jelenségeket vizsgálnak, mint a mechanikus allodínia, fényérzékenység és megváltozott általános spontán aktivitás.^{52,53}

Egy gyakran használt modell a CFA-t használja gyulladásos állapot létrehozására.^{54,55} A rágcsálók bajuszpárnájába injektált CFA gyulladást és mechanikus hiperalgéziát/allodíniát eredményez az orofaciális régióban.⁵⁶ Bár nem tekinthető validált migrénmodellnek, a trigeminális aktiváció modelljeként használható. A felsorolt módszerek mellett a transzkriptomikai elemzés lehetővé tesz egy elfogulatlan megközelítést a patofiziológiai változásokért felelős kritikus útvonalak feltárására.⁵⁷ Irodalmi adatok vannak mikroarray elemzésre CFA bajuszpárnába⁵⁸, rágóizomba⁵⁹ való injektálását követően.

A perifériás vérből izolált perifériás mononukleáris sejteket (PBMC) limfociták (T-sejtek, B-sejtek, természetes ölősejtek – NK sejtek) és monociták alkotják. A minimálisan invazív mintavétel és a viszonylag egyszerű izolálási metodika miatt a PBMC-k vonzó biológiai markerjelöltekké váltak a klinikai gyakorlatban. Olyan biológiai anyagoknak tekinthetőek, amelyek különböző betegségek esetén képesek tükrözni a központi idegrendszerben bekövetkező patofiziológiai változásokat. A neuroinflammatorikus folyamatok specifikus módon jellemezhetők a PBMC-k segítségével, új lehetőségeket biztosítva a biomarker kutatás számára.⁶⁰⁻⁶²

CÉLKITŰZÉSEK

1. CFA orofaciális gyulladással patkánymodelljeiben az arc mechanonociceptív küszöbértékeinek, illetve TG, TNC és PBMC mintákban különböző génexpressziók időbeli változásainak követése microarray és valós idejű reverz-transzkripció polimeráz láncreakciós (RT-qPCR) elemzéssel, betekintést nyerve a trigeminális fájdalom patomechanizmusába.
2. A betegség- és fejfájás-specifikus kórelletani útvonalak és lehetséges terápiás célpontok azonosítása migrénes betegek PBMC mintáinak transzkriptomikai elemzésével, rohamok alatt és rohammentes időszakokban.
3. A HK-1/*Tac4* szerepének vizsgálata a trigeminovaszkuláris rendszerben, a *Tac4* expresszióváltozásainak feltérképezése révén a TG-ban patkány és egér gyulladással orofaciális fájdalommodelljében, kiegészítve viselkedésváltozások és a neuronális aktiváció és a neuroinflammáció kiválasztott markereinek génexpressziós változásainak vizsgálataival, vad típusú és *Tac4* génhiányos (*Tac4*^{-/-}) egereket összehasonlítva.
4. *Tac4* gén gliasejteken történő detektálása in vitro elrendezésben, valamint a HK-1 hatásának jellemzése kevert gliasejtkultúrákban, hogy betekintést nyerjünk a HK-1 neuron-glia kommunikációra gyakorolt potenciális hatásába és annak molekuláris útvonalaiba.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Állatkísérletek

A kísérleteket hím Wistar patkányokon (200-300 g, Toxicop, Magyarország), C57Bl/6 és *Tac4* génhiányos (*Tac4*^{-/-}) hím egereken (20-25 g, 8-12 hetes) végeztük. Az állatokat standard körülmények között tartottuk a Pécsi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének állatházában. Minden kísérletes protokollt a PTE MÁB, illetve az ÁTET jóváhagyott (engedélyszám: BA02/2000-9/2011 és BA02/2000-7/2018), a kísérleteket az európai jogszabályoknak (2010/63/EU irányelv) és a tudományos célokra felhasznált állatok védelméről szóló magyar kormányrendeletnek (40/2013., II. 14.) megfelelően végeztük.

Orofaciális gyulladással fájdalom modell

A CFA-t (CFA; Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA; elölt *Mycobacterium paraffinolajban* szuszpendálva; 1 mg/ml) ketamin (patkányok: 72 mg/kg, egerek: 100 mg/kg) és xilazin (patkányok: 8 mg/kg, egerek: 5 mg/kg) altatásban az állatok bajuszpárnájába injektáltuk s.c. (patkányok 50 µl, egerek 10 µl). A kontroll csoportok esetében azonos mennyiségű sóoldatos injekciót alkalmaztunk.

Microarray elemzés

A patkányok TG mintavétele hét nappal a s.c. CFA-injekció beadása után történt. A gyorsfagyasztott mintákból teljes RNS-t izoláltunk az RNeasy Mini Kit (Qiagen, Carlsbad, CA) segítségével, és a kiváló minőségű mintákat ($RIN > 8,0$) használtuk fel az elemzéshez. A génextpresszió vizsgálatot Agilent microarray platformok segítségével végeztük. A CFA-injektált patkányok kontralaterális oldala kontrollként szolgált. A minták jelölését, a tömbhibridizációt és az elsődleges adatok elemzését az ArrayStar Inc. végezte (Rockville, MD, USA).

Mechanonocicepció mérése

Az állatok mechanonociceptív küszöbét az arcon von Frey filamentumokkal (Stoelting, Wood Dale, Illinois, USA) mértük meg. Patkányok esetében a legkisebb filamentum 0,8 g, a legvastagabb alkalmazott szál 12 g erőt fejtett ki, míg egerek esetében ezen értékek 0,007 g és 1 g voltak. A mechanonociceptív küszöbértéket úgy határoztuk meg, a legalacsonyabb erő, amely a szál 5 ismételt alkalmazása során az állaton legalább kétszer elhárító reakciót vált ki (fej elrántása, megrázása, bajuszpárna törlése).

Spontán lokomotoros aktivitás mérése

Az open field teszt az egerek spontán lokomotoros aktivitásának és szorongásszintjének vizsgálatára alkalmazható vizsgálat. Az egereket egy megvilágított arénába (60 cm x 40 cm) helyeztük, majd 10 percen keresztül megfigyeltük az egerek viselkedését. A rögzített videókat az Ethovision szoftver (Noldus Information Technology, Wageningen, Hollandia) segítségével értékeltük ki.

Mintavétel

Az RT-qPCR elemzéshez a TG és TNC mintavétel a viselkedési kísérleteket követően, egy, három és hét nappal a CFA s.c. injekció beadása után történt. Az állatokat pentobarbitállal (patkányok: 50 mg/kg és egerek 70 mg/kg; i.p.) altattuk el. A vérmintákat szívpunkcióval vettük le, majd izoláltuk perifériás vér mononukleáris sejtjeit. A TG, TNC szövetmintákat azonnal folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, és $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk a további feldolgozásig.

Az RNAscope módszerhez az állatokat transzkardiálisan perfundáltuk 0,01 M foszfáttal pufferelt sóoldattal (PBS; pH 7,6), majd 4%-os paraformaldehiddel (CFA vagy sóoldatos injekciót követő harmadik napon). Az 5 μm -es metszeteket mikrotómmal (HM 430 Thermo Fisher Scientific, USA) vágtuk.

A NanoString méréshez szükséges TG mintákat gyorsfagyasztottuk, és felhasználásig $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk (CFA vagy sóoldatos injekciót követő harmadik napon). Az RNAscope és a NanoString elemzést a viselkedési vizsgálatokban részt nem vevő állatok szövetein végeztük el.

Perifériás vér mononukleáris sejtek izolálása

A PBMC-eket friss perifériás vérből tisztítottuk a Ficoll-PaquePREMIUM gyártójának utasításai szerint (GE Healthcare, Budapest, Magyarország). A sejteket 1 ml TRI Reagenssel (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA) szuszpendáltuk és a további feldolgozásig - 80°C-on tároltuk.

Kvantitatív valós idejű reverz-transzkripció polimeráz láncreakció (RT-qPCR)

A TRI Reagent gyártói előírásainak megfelelően végeztük el a teljes RNS izolálását. Az RNS-t a Direct-zol RNA MiniPrep kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) segítségével tisztítottuk. Az RNS minták mennyiségét és minőségét Nanodrop ND-1000 Spectrophotometer V3.5 (Nano-Drop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) segítségével ellenőriztük. A teljes RNS reverz transzkripcióját a Maxima First Strand cDNS Synthesis Kit (ThermoScientific, Santa Clara, CA, USA), a PCR-amplifikációt SensiFast SYBR Lo-ROX Kit (Bioline, Taunton, USA) segítségével végeztük. A normalizáláshoz a legalkalmasabb referenciagéneket vagy kombinációkat a geNorm segítségével választottuk ki: *Ppia* és *Hprt1* a PBMC és $\beta 2m$, *Hprt1* a TG és TNC patkány; *Ppia* a TG és *Ppia*, *Gapdh* a PBMC és TNC egér mintákhoz.

RNAscope in situ hibridizáció (ISH)

Az RNAscope in situ hibridizációs technikát 5 μ m vastagságú, hosszanti patkány és egér TG metszeteken végeztük, amelyeket RNAscope Multiplex Fluorescent Reagent Kit v2 (ACD, Hayward, CA, USA) segítségével dolgoztunk fel. A metszeteket 4',6-diamidino-2-fenilindollal (DAPI) festettük, és ProLong Glass Antifade Mountant-tal rögzítettük a konfokális képalkotáshoz. A fluoreszcens képeket Olympus Fluoview FV-1000 lézer pásztázó konfokális mikroszkóppal (Olympus, Tokió, Japán) és Fluo-View FV-1000S-IX81 szoftverrendszerrel készítettük.

Az RNAScope technikát kevert gliasejt kultúrákból (MGC) készített lemezeken is alkalmaztuk, a gyártó protokollja szerint.

NanoString nCounter technika

770 gént (immun és gyulladáshoz, neurobiológiai és neuropatológiai folyamatokhoz köthető) tartalmazó egér neuroinflammációs panelt alkalmaztunk az egér TG mintákon, a NanoString nCounter technológia révén (NanoString Technologies, Seattle, WA) a gyártó utasításai szerint. Az RNS mintákat a Mus musculus Neuroinflammation panel v1.0 segítségével dolgoztuk fel a gyártó protokollja szerint (MAN-10023-11), NanoString SPRINT Profiler eszközt használva.

Kevert glia sejt kultúra

Az asztrocitákból, oligodendrocitákból és mikrogliaákból álló, neuronoktól, agyhártyasejtektől és fibroblasztoktól mentes primer sejt kultúrákat újszülött egerek agykérgi szövetéből állítottuk elő. A bulbus olfactorius és a kisagy eltávolítása után egy-három napos C57Bl6 egerek teljes agyát enzimatikusan disszociáltuk a Neural Tissue Dissociation Kit (P) segítségével (Miltenyi Biotec Inc, Auburn, USA). Az Advanced Cell Diagnostics RNAscope segítségével in situ hibridizációt alkalmaztunk az MGC-ből készített, levegőn szárított citospin preparátumokon. A tenyészeteket egér HK-1-gyel (500 nM, 1 μ M, 5 μ M) kezeltük a radioaktív $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -felvétel vizsgálatához. Gyulladásos citokin mérést a MILLIPLEX®MAP Kit (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) segítségével végeztünk a HK-1 (500 nM, 1 μ M, 1 μ M, 5 μ M) kezelt gliasejtek felülúszójából.

Humán vizsgálat

A humán vizsgálat protokollját az Nemzeti Népegészségügyi Központ engedélyezte (28324-5/2019/EÜIG). Minden alany a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően adta írásbeli beleegyezését.

Vizsgálati alanyok

A vizsgálat során 20 és 65 év közötti epizodikus migrénes betegeket toboroztunk. A migrénben szenvedő betegek a Nemzetközi Fejfájás Társaság (International Headache Society, IHS) kritériumai szerint kerültek felvételre. Krónikus gyulladássos betegségben és depresszióban szenvedő betegek nem kerültek a kutatásba. 36 nő és 1 férfi került be a tanulmányba: 24 epizodikus migrénes (20 interictalis minta került bevonásra a transzkriptomikai elemzésbe) beteg aurával (n=3) vagy aura nélkül (n=21) és 13 egészséges önkéntes.

A mintavétel protokollja

Vénás vérvétel a migrénes betegektől rohammentes (interictalis) időszakban és roham alatt (ictalis) etiléndiamintetraecetsavat (EDTA) tartalmazó üvegcsövekbe történt. A rohammentes mintavétel a legutolsó rohamot követő minimum 24 óra eltelte után történt. Az ictalis minták vérvétele előtt a résztvevők nem alkalmaztak akut fájdalomcsillapító készítményeket. A folyadék- és ételbevitelre vonatkozóan nem volt korlátozás. A migrén jellemzőit a résztvevők által kitöltött részletes kérdőív segítségével is értékeltük. A PBMC mintákat Ficoll-Paque PREMIUM (GE Healthcare, Budapest, Magyarország) segítségével izoláltuk.

RNS extrakciós eljárás és minőségellenőrzés

A teljes RNS extrakcióját és tisztítását a korábban leírtak szerint végeztük, a tisztítás során oszlopon történő DNáz-emésztést is alkalmazva. Az RNS koncentrációját Qubit 3.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) segítségével határoztuk meg, az RNS minőségellenőrzését pedig TapeStation 4200 készülékkel, RNA ScreenTape (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) segítségével végeztük.

Illumina könyvtárkészítés és szekvenálás

Az Illumina szekvenáláshoz szükséges könyvtárat a NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB, Ipswich, MA, USA) segítségével készítettük el. Az Illumina szekvenálást a NextSeq550 műszeren (Illumina, San Diego, CA, USA) végeztük 1x76 futtatási konfigurációval.

1. fejezet: Transzkripciós változások a trigeminális ganglionokban, a trigeminális caudalis magban és a perifériás vér mononukleáris sejtjeiben patkány orofaciális fájdalommodellben

EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

A CFA génexpressziós változásokat indukált patkány trigeminális ganglionban a hetedik napon

512 differenciáltan expresszált (DE, 319 up- és 191 downregulálódott) transzkriptumot azonosítottunk a kontroll (kontralaterális) és a CFA (ipsilaterális) TG minták között ($p \leq 0,05$; fold change $|FC| > 2$), microarray analízis segítségével. A lista élén egy lncRNS (MRAK049104; FC 5,20) foglal helyet; funkciója azonban ismeretlen. A neurogén differenciálódásban részt vevő *Neurod2* downregulálódott a leginkább (FC -9,20).

Számos biológiai folyamat és útvonal részt vett a CFA által kiváltott gyulladásban

Funkcionális elemzést végeztünk, a kontralaterális és ipsilaterális összehasonlításban talált, DE géneket felhasználva ($|FC| > 2$, $p \leq 0,001$), hogy információt nyerjünk az érintett biológiai folyamatokról és útvonalakról. Az eredmények között szteroid és szénhidrát anyagcsere-folyamatok, szenzoros érzékelés és szaglás transzdukció folyamatai szerepeltek.

A gyulladás csökkent orofaciális mechanociceptív küszöbértéket okozott patkányban

A patkányok CFA-injekcióval kezelt oldalán a kontralaterális oldalhoz képest szignifikánsan csökkent az arc mechanociceptív küszöbértéke az injekciót követő első naptól kezdve. A küszöb a harmadik napon érte el a minimumát.

Gyulladás változásokat idézett elő a különböző mRNS expressziókban a patkányszövetekben

A trigeminális ganglionban differenciáltan expresszált mRNS-ek validálása

További vizsgálatainkban microarray eredmények validálására többek között olyan géneket választottunk a DE listából, amelyek legnagyobb mértékben változtak vagy potenciális gyógyszer célmolekulák lehetnek: *Lkaaeear1*, G-protein coupled receptor 39 (*Gpr39*) (FC 3,04 és 4,01), kisspeptin (*Kiss1*) és kisspeptin-1 receptor (*Kiss1r*), *Neurod2* (FC -1,74, -2,63 és -9,2). A hetedik napon a *Gpr39* és a *Kiss1r* expressziós változásai hasonlóak voltak a microarray adatokhoz. A PCR eredmények azonban nem tudták megerősíteni az *Lkaaeear1*, *Neurod2* és *Kiss1* mikroarray adatait. A *Neurod2*-t a kizárólag a TNC-ben tudtuk kimutatni az általunk használt RT-qPCR protokoll segítségével. A *FosB*, az Allograft Inflammatory Factor 1 (*Aif1*, Iba1 fehérjét kódolja), a glia fibrilláris savas fehérje (*Gfap*) és a calcitonin gén-rokon peptid (*Calca*, a CGRP-t kódolja) expressziójában hetedik napon a PCR módszerrel nem mutattunk ki szignifikáns különbségeket a két oldal között, ezen eredmények összhangban voltak a microarray adatokkal.

A génexpressziós változások a harmadik napon érték el a maximumot a trigeminális ganglionban

A neuronális és glia aktivációs markerek expressziójának időbeli változása a hiperalgéria kialakulását követte a TG-ban, melyet RT-qPCR módszerrel mértük. A CFA a *Kiss1r*, a neuronális (*FosB*), a mikroglia (*Aif1*) és az asztrocita/szatellita (*Gfap*) aktivációs markerek mRNS szintjének jelentős emelkedését okozta az első napon a sóoldatos kezeléshez képest. A harmadik napra a *Gpr39*, *Lkaaeal1*, *Kiss1*, *Kiss1r*, *Calca*, *FosB* és *Gfap* is elérte az expressziós maximumát.

A gének némelyike változásokat mutatott az agytörzsi trigeminális caudalis magban

Számos általunk vizsgált célmolekula expressziója szignifikáns időbeli változásokat mutatott a CFA hatására a CFA-kontroll és a sóoldatos kontrollcsoportokhoz képest. A maximumot a harmadik napon érték el. A *Kiss1r* esetében nem volt szignifikáns különbség.

A génexpressziós változások a perifériás vér mononukleáris sejtjeiben tükröződtek

Az *Lkaaeal1* és a *Kiss1r* gén mRNS szintjének változásai a PBMC-ben alacsonyak, ugyanakkor szignifikánsak voltak, CFA-t a sóoldattal összehasonlítva. Az *Lkaaeal1*, a *Kiss1r*-hez hasonló mintázatot mutatott, elérve expressziós maximumát az első napon. A *Gpr39* szintjeiben nem volt szignifikáns különbség. Érdekes módon a *FosB* és az *Aif1* minden időpontban szignifikánsan megnövekedett szintet mutatott a CFA kezelés hatására, míg a *Gfap* csak a hetedik napon.

Tudomásunk szerint ez az első olyan átfogó CFA által kiváltott orofaciális gyulladási modellről szóló vizsgálat, amely a TG-, a TNC- és a perifériás vér mononukleáris sejtjeiben fellelhető transzkripciós változásait írja le, viselkedési megfigyelésekkel összefüggésben. Számos gén up- és downregulációját mutattuk ki, amelyeknek valószínűsíthetően részt vesznek trigeminális idegek szenzitizációjában. A PBMC-k, mint az immunsejtek könnyen hozzáférhető anyagának előnyét egyre inkább elismerik szakirodalomban.⁶² Ennek ellenére, egyetlen tanulmány sem értékelte a perifériás vér mononukleáris sejtminták transzkripciós mintázatát viselkedési vizsgálatokkal kombinált adatokkal összevetve. Egyértelmű, hogy a *FosB*, *Aif-1*, *Gfap*, *Lkaaeal1* változásainak mérése a PBMC-ben egyelőre nem bír diagnosztikai értékkel, illetve túl korai lenne következtetéseket levonni. Mindazonáltal érdemes lenne további vizsgálatokat végezni, hogy kiderüljön, lehet-e prediktív értéke az orofaciális fájdalom és a fejfájás zavarok tekintetében. Ezenkívül érdemes lenne megfontolni a perifériás vér mononukleáris sejtek izolálásának állatmodellekben történő alkalmazását transzlációs eszközként a humán vizsgálatokhoz.

2. fejezet: Betegség- és fejfájás-specifikus mediátorok és útvonalak azonosítása migrénben a perifériás vér mononukleáris sejtjeinek transzkriptomikai elemzésével

EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

Klinikai jellemzők

Rohammentes (interictalis) időszakban huszonnégy, illetve nyolc roham alatti (ictalis) minta gyűlt össze. Az interictalis, ictalis és kontroll csoportok között demográfiai és klinikai jellemző tekintetében eltérés nem volt megfigyelhető.

Az interictalis vs. egészséges összehasonlításból származó DE gének ismertetése

Az interictalis csoportot összehasonlítva az egészséges csoporttal, 163 differenciáltan expresszált gént találtunk ($|FC| > 1.5$, p -érték $\leq 0,05$). Az interleukin IL-1 β (*IL1B*), a ciklooxygenáz 2 (*COX2*), a tumor nekrosis faktor (*TNF*) és számos kemokin, például az IL-8 (*IL8*) szerepelt az analízis során feltárt listán.

Az ictalis vs. interictalis összehasonlításból származó DE gének ismertetése

Az ictalis - interictalis összehasonlításban 144 DE gént detektáltunk ($|FC| > 1.3$, p -érték $\leq 0,05$): 64 up-, 80 downregulálódott. A heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C like 1 (*HNRNPCL1*), az olfactory receptor family 10 subfamily G member 2 (*OR10G2*) és az interleukin 20 receptor alegység alfa (*IL20RA*) megtalálhatóak a DE gének toplistájában. A hamis felfedezési arány (FDR) korrekciója után két gén maradt a listában, amelyek korrigált p -értéke 0,25 alatt volt: *HNRNPCL1* és a cornichon family AMPA receptor auxiliary protein 3 (*CNIH3*).

Az ictalis vs. egészséges összehasonlításból származó DE gének ismertetése

Az ictalis mintákban az egészségesekhez képest 131 gén expressziója volt eltérő ($|FC| > 1,5$, $p \leq 0,05$): 118 up-, 13 downregulálódott. Az *IL1B* gén is érintett volt ebben az összehasonlításban, többek között a *PTGS2*, a *TNF* és az *IL8* mellett.

Mitochondriális diszfunkció jellemzi a migrénes betegek perifériás vér mononukleáris sejtjeit

A DE és az összes gén rangsorolt listának funkcionális elemzése során (GO, KEGG, Reactome) betekintést nyertünk a migrénben esetlegesen szerepet játszó funkcionális eltérésekbe, hálózatokba és biológiai folyamatokba. Az egészséges csoportot a rohammentes állapottal összehasonlítva, a citokin és kemokin receptorok kötődése, az interleukin-10 (*IL-10*) jelátvitel és az oxidatív foszforiláció érintettsége mutatkozott szignifikánsnak. A roham alatti és rohammentes időszakokat összehasonlítva, a hormon- és citokinaktivitás, az oxidatív foszforiláció és a

kemoszenzoros receptorok voltak szignifikánsan érintettek. Továbbá az ictalis-egészséges összehasonlításban az IL-4, IL-10 és IL-13, valamint a kemokin, a növekedési faktor és a neuroaktív ligand-receptor kölcsönhatások szerepeltek. Az összes gén rangsorolt listájának dúsítási elemzése statisztikailag szignifikánsan az oxidatív foszforiláció metabolikus útvonalát emelte ki az interictalis-egészséges és az ictalis-interictalis összehasonlításban. A mitokondriális működés mindkét összehasonlításban érintett volt.

Jelen tanulmány az első olyan transzkriptomikai analízis leírását tartalmazza, melyben az eredmények migrénes betegek véréből izolált PBMC mintákból származnak, önkontrollos megvalósítással. Az ictalis és interictalis illetve egészséges kontrollokból származó mérések összehasonlítása betegség- és fejfájás specifikus változások detektálására egyaránt lehetőséget nyújtottak. A vizsgálati elrendezés, a felhasznált PBMC minták hiánypótlóak az aktuális migrénhez köthető irodalomban.

Eredményeink arra utalnak, hogy fokozott gyulladásozó és immunsejt-aktivitás, valamint mitokondriális diszfunkció fontos szerepet játszhat a migrénre való hajlam és a fejfájás kialakulásában. A perifériás vérben kimutatott génextpresszió változások a betegség szisztémás természetére utalnak. Tanulmányunk eredményei új irányvonalat adhatnak a betegség diagnosztizálásban, továbbá növelhetik a jelenlegi terápiás potenciál spektrumát: citokineket célzó gyógyszerek vagy oxidatív stressz csökkentése értékes lehet a migrén kezelésében vagy profilaxisában.

3. fejezet: A hemokinin-1 génextpresszió upregulálódik a trigeminális ganglionokban gyulladásozó orofaciális fájdalommodellben: lehetséges szerepe a perifériás szenzitizációban

EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

A Tac4 mRNS szintje az orofaciális allodíniával párhuzamosan változott CFA-indukált gyulladást követően patkány trigeminális ganglionban

A CFA-injektált patkányok bajuszpárna-területének mechanociceptív küszöbe mindhárom napon szignifikánsan csökkent a sóoldattal kezelt patkányokhoz képest, és a harmadik napon érte el a minimumot. A Tac4 mRNS expressziós szintje a TG-ban korrelált a von Frey-küszöb eltolódásával, és a harmadik napon érte el a maximumát.

A CFA Tac4 mRNA upregulációt okozott a patkány trigeminális ganglion primer szenzoros neuronjaiban és a szatellita gliasejtekben

A *Tac4* mRNA expressziójának alap- és megváltozott szintjének vizsgálatára a patkány TG-ban sóoldat vagy CFA injekcióját követően fluoreszcens RNSscope in situ hibridizációt végeztünk. A *Tac4* transzkriptumok elsősorban a szatellita gliasejteken és az érzékelő neuronokon lokalizálódtak. A CFA kezelés mindkét sejttípusban jelentős upregulációt okozott. A *Tac4* pozitív transzkriptumokat Schwann-sejteken is kimutattuk.

Viselkedési tesztek szorongásszerű viselkedésre utaltak a Tac4 génhányos egerekben

A *Tac4* gén hiányának a viselkedésre gyakorolt hatásának vizsgálatára az orofaciális gyulladáson alapuló *Tac4*^{-/-} egereken alkalmaztuk. A CFA beadása szignifikánsan csökkent mechanonociceptív küszöböt okozott egy és három nappal az injekció beadása után mind a WT, mind a *Tac4*^{-/-} egereknél. A sóoldatos injekció azonban hasonló, bár nem szignifikáns változásokat eredményezett. A WT és a *Tac4*^{-/-} egerek küszöbértékei között nem volt szignifikáns változás. A sóoldattal és CFA-val kezelt csoportok jobban elkülönültek a WT egereknél. A CFA injekció hatására a spontán viselkedésben nem történt lényeges változás (sóoldat vs. CFA). A *Tac4*^{-/-} egerek azonban kevesebb időt töltöttek a nyitott aréna középső zónájában vad típusú társaikhoz viszonyítva, ami szorongásszerű viselkedésre utal.

A CFA Tac4 mRNA upregulációt okozott az egér trigeminális ganglion primer szenzoros neuronjaiban és a szatellita gliasejtekben

A patkány TG-ban talált *Tac4* expresszióhoz hasonlóan, a *Tac4* transcriptumát egér TG szenzoros neuronjaiban és szatellita gliasejtekben is kimutattuk. Továbbá, a CFA által kiváltott *Tac4* upreguláció az egérben is megfigyelhető volt.

CFA-indukált változások a neuronális és glia aktivációs markerek szintjén a Tac4 génhányos egerek trigeminális ganglionjában

WT egerekben a neuronális *FosB* génexpresszió a harmadik napra jelentősen megemelkedett az intakt mintákhoz képest. Azonban mind a CFA injekció, mind a sóoldat beadása növelte a *FosB* expressziós szintjét. A sóoldattal és CFA-val kezelt minták közötti különbségek csak az első napon voltak szignifikánsak. A *Tac4*^{-/-} állatokban csak egy későbbi időpontban, a hetedik napon mutatott a *FosB* szignifikáns emelkedést. A neuronális marker upregulációja a harmadik és a hetedik napon szignifikánsan alacsonyabb volt a *Tac4*^{-/-} egerek esetében, összehasonlítva a WT csoportokkal. Az intakt állatokban a mikroglia/makrofág aktivációs marker (*Aif1*) alacsonyabb expressziós szintet mutatott a génhányos egerekben a WT csoporthoz képest. Kezelés hatására az SGC/asztrocita aktivációs marker minden csoportban minden napon megemelkedett az intakt mintákhoz képest. A

CFA szignifikáns emelkedést idézett elő a WT csoportokban a megfelelő sóoldattal kezelt csoporthoz képest az első és a harmadik napon. Érdekes módon a gyulladás nem okozott változást a *Gfap* szintekben a génhányos egerekben. A legtöbb összehasonlítás azt mutatta, hogy a *Gfap* mRNS expressziós szintje a *Tac4*^{-/-} csoportokban alacsonyabb volt.

A neuroinflammációhoz kapcsolt gének különbözőképpen változtak a sóoldattal vagy CFA-val kezelt Tac4 génhányos és WT egerek trigeminális ganglionjában

A WT és *Tac4*^{-/-} egerek bajuszpárnájából a CFA vagy sóoldatos injekciót követő harmadik napon gyűjtött TG RNS mintákon NanoString nCounter® analízist végeztünk. Az eredmények különböző neuroinflammációval kapcsolatos DE géneket és jelentős sejttípus-specifikus korrelációkat mutattak ki. A sóoldattal kezelt *Tac4*^{-/-} csoportban 15 gén expressziója változott (9 up-, 6 downregulálódott) a sóoldattal kezelt WT mintákhoz képest. Sóoldattal való kezelés elemzése mikroglia/macrofág és citotoxikus sejt-specifikus szignifikáns változásokat mutatott ki (*Tac4* génhányos csoport vs. WT csoport). A CFA-val kezelt *Tac4*^{-/-} csoportban 22 gén expressziója változott (13 up-, 9 downregulálódott) a CFA-val kezelt WT csoporthoz képest (*Tac4* génhányos csoport vs. WT csoport). A CFA kezelés elemzése a neutrofil granulocitákra specifikus gének változásait mutatta ki a CFA kezelt *Tac4*^{-/-} vs. CFA kezelt WT összehasonlításban.

Ebben a fejezetben eredményeink megerősítették a *Tac4* mRNS jelenlétét a trigeminális ganglionban és annak expresszióemelkedését az orofaciális gyulladás következtében. *Tac4* transzkriptumokat mutattunk ki a trigeminális ganglion primer szenzoros neuronjain, illetve gliasejtjein. Ezenkívül a *Tac4* jelentős gyulladás-indukált upregulációját mutattuk ki mind a neuronokban, mind a szatellita gliasejtjeiben, melynek időbeni változása az allodínia kialakulásával párhuzamosan történt, ami a szenzitizációs folyamatban betöltött potenciális szerepére utalhat. Összefoglalva, jelen eredményeink alátámasztják a HK-1 jelentőségét az orofaciális fájdalom hátterében álló gyulladásos folyamatokban és a nociceptív szenzitizációban. Azt is kimutattuk, hogy a HK-1 részt vesz a neuron-glia kölcsönhatásokban fiziológiás körülmények között és gyulladás következtében is. Eredményeink kizárólag mRNS szintű expressziós változásokra szolgáltatnak bizonyítékot, ami a vizsgálat limitációját képezi, azonban az ezzel párhuzamosan bekövetkező viselkedésbeli változások arra utalnak, hogy a vizsgált mRNS-ek fehérjetermékei is érintettek lehetnek.

4. fejezet: Hemokinin-1 expressziója és hatása kevert gliasejt kultúrára

EREDMÉNYEK ÉS DISZKUSSZIÓ

A Tac4 transzkriptumok ko-lokalizálódtak az Aif1 (Iba1), Gfap, Olig2 expresszáló sejtekkel egerek vegyes gliasejt kultúráin

A *Tac4* mRNS expresszió bazális szintjének vizsgálatára egér MGC-ben fluoreszcens RNSscope in situ hibridizációt végeztünk. Minden gliasejt típusban kimutathatóak voltak a *Tac4* transzkriptumok, mind a sejtmagban, mind a citoplazmában. A koexpresszió nagyobb mértékű az oligodendrocitákban és az asztrocitákban, mint a mikroglia esetében.

A hemokinin-1 kezelés radioaktív $^{45}\text{Ca}^{2+}$ felvételét indukálta a kevert gliasejt kultúrákban

Az MGC-k HK-1-gyel történő inkubálása koncentrációfüggő radioaktív $^{45}\text{Ca}^{2+}$ felvételhez vezetett. Míg az 1 μM HK-1 az ECS-hez képest növelni tudta a sejtek $^{45}\text{Ca}^{2+}$ felvételét, addig az 5 μM HK-1 kezelés szignifikáns beáramlást generált.

A hemokinin-1 kezelés növelte a gyulladósos citokinek termelését

A sejt kultúra HK-1-gyel történő 24 órás kezelését követően a felülúszóból nem volt kimutatható az IL-1 β . Az MCP-1 és a TNF α esetében szignifikáns koncentráció emelkedést tapasztaltunk 5 μM -os HK-1 kezeléssel. Bár a különböző HK-1 kezelések nem befolyásolták szignifikánsan a RANTES, KC és IL-6 szintjét, a megfigyelt tendenciák hasonlóak voltak a korábban említett citokinekhez.

Jelen fejezetben a *Tac4* mRNS jelenlétét mutatjuk ki egér agyszövetből származó gliasejtekben. Eredményeink az elsők, amelyek bemutatják a *Tac4* transzkriptumok lokalizációját sejtszinten. Elsőként mutattuk ki, hogy több proinflammatorikus molekula is részt vesz a HK-1 által közvetített jelátvitelben. Így eredményeink alátámasztják, hogy a gliasejtek aktivációja mikrokörnyezet formálásával elősegíti a gyulladósos progressziót. Fontos megjegyezni, hogy adataink sejt kultúrákból származnak, ezért további in vivo validációra van szükség.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KONKLÚZIÓK

- A trigeminovaskuláris rendszer elsődleges és másodlagos szenzoros neuronjainak szintjén leírtunk néhány up- és downregulált gént, amelyek szerepet játszhatnak a perifériás és központi szenzitizációs mechanizmusokban.
- A neuronális szövetekben észlelt változásokhoz hasonló transzkriptomikai változásokat mutatunk ki a perifériás vér mononukleáris sejtjeiben. Ezek az eredmények új perspektívákat nyithatnak és további vizsgálatokat indíthatnak el a trigeminális fájdalombetegségek kutatásában.
- Migrénes betegek ictalis és interictalis mintáiból izolált mononukleáris sejtjeit transzkriptomelemzésnek vetettük alá. E csoportok egészséges kontrollokkal való összehasonlítása lehetővé tette mind a betegség-, mind a fejfájásspecifikus változások azonosítását, és feltárta a gyulladásos útvonalak fontosságát, valamint a különböző citokinek potenciális hozzájárulását a migrénre való hajlamhoz.
- Eredményeink továbbá a mitokondriális diszfunkció, az oxidatív stressz, a citokin- és az immunaktivitás lehetséges szerepére utalnak a migrénben.
- Kimutattuk a *Tac4* mRNS expresszióját és lokalizációját sejtszinten a trigeminális ganglion szenzoros neuronjain és a gliasejtek minden típusán. Továbbá, a *Tac4* jelentős gyulladás-indukált upregulációját mutattuk ki mind a neuronokban, mind a szatellita gliasejtekben. Eredményeink alátámasztják a HK-1 jelentőségét az orofaciális fájdalom hátterében álló gyulladásos folyamatokban és a nociceptív szenzitizációban.
- Megerősítettük a *Tac4* mRNS jelenlétét, illetve a transzkriptumok sejtszintű lokalizációját sejtmagban és citoplazmában oligodendrociták, asztrociták és mikroglia esetében is.
- Kimutattuk, hogy a HK-1 által közvetített jelátvitelben gyulladásos molekulák, főként az MCP-1 és a TNF α , esetleg a RANTES, KC, IL-6 is részt vesznek.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Bölskei Katának, aki az elmúlt évek alatt végigkísérte munkámat. Nagyon hálás vagyok az útmutatásért, a támogatásért és a tudásért, amit megosztott velem, valamint a barátságért, amit irántam tanúsít.

Szeretném kifejezni hálámat Prof. Dr. Pintér Erikának, a Neurofarmakológia doktori program vezetőjének, hogy teret biztosított PhD munkámnak a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben. Külön köszönöm neki az évek során nyújtott folyamatos támogatását.

Köszönöm Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának, hogy lehetőséget biztosított arra, hogy az általa irányított projekteken dolgozhassak. Lelkedése, pozitív gondolkodása és a kutatás iránti elkötelezettsége követendő példaként szolgált számomra.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Szolcsányi Jánosnak, a kutatócsoport alapítójának; megtiszteltetésnek tartom, hogy ismerhettem őt.

Szeretnék köszönetet mondani szobatársaimnak, volt szobatársaimnak, doktorandusz kollégáimnak és intézetünk valamennyi tagjának, hogy vidám légkört teremtettek, barátságukat megosztották velem, közben pedig tanácsokkal láttak el és szakmailag segítettek az évek alatt.

Köszönet illeti a Szentágothai János Kutatóközpont Bioinformatikai Kutatócsoport munkatársait, akik munkámhoz professzionális statisztikai és elemzési háttérrel biztosítottak, valamint a Szegedi Tudományegyetem munkatársait, akik szakértelmükkel lehetővé tették a humán migrén vizsgálat sikeres lebonyolítását.

Végül nem tudok elég hálás lenni a családomnak, amiért mindvégig mellettem állt, és a férjemnek, aki türelmével és szeretetével bátorított és támogatott az évek során.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Goadsby, P. J. *et al.* Pathophysiology of Migraine: A Disorder of Sensory Processing. *Physiol. Rev.* **97**, 553–622 (2017).
2. Mulder, E., Van Baal, C., Gaist, D., Kallela, M., & Palotie, A. Genetic and Environmental Influences on Migraine: A Twin Study Across Six Countries. *Twin Res.* **6(5)**, 422–431., (2003).
3. Steiner, T. J. *et al.* Migraine remains second among the world’s causes of disability, and first among young women: findings from GBD2019. *J. Headache Pain* **21**, 137 (2020).
4. Tajti, J., Majláth, Z., Szok, D., Csáti, A. & Vécsei, L. Drug safety in acute migraine treatment. *Expert Opin. Drug Saf.* **14**, 891–909 (2015).
5. Weatherall, M. W. The diagnosis and treatment of chronic migraine. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **6**, 115–123 (2015).
6. Tajti, J. *et al.* Migraine is a neuronal disease. *J. Neural Transm.* **118**, 511–524 (2011).
7. L Kelman. The Triggers or Precipitants of the Acute Migraine Attack. *Cephalalgia* **27**, 394–402 (2007).
8. Martin, V. T. & Behbehani, M. M. TOWARD A RATIONAL UNDERSTANDING OF MIGRAINE TRIGGER FACTORS. *Med. Clin. North Am.* **85**, 911–941 (2001).
9. Sauro, K. M. & Becker, W. J. The stress and migraine interaction. *Headache* **49**, 1378–1386 (2009).
10. Edvinsson, L., Villalón, C. M. & MaassenVanDenBrink, A. Basic mechanisms of migraine and its acute treatment. *Pharmacol. Ther.* **136**, 319–333 (2012).
11. Pietrobon, D. & Moskowitz, M. A. Pathophysiology of Migraine. *Annu. Rev. Physiol.* **75**, 365–391 (2013).
12. de Vries, T., Villalón, C. M. & MaassenVanDenBrink, A. Pharmacological treatment of migraine: CGRP and 5-HT beyond the triptans. *Pharmacol. Ther.* 107528 (2020) doi:10.1016/j.pharmthera.2020.107528.
13. Fan, W. *et al.* The role of satellite glial cells in orofacial pain. *J. Neurosci. Res.* **97**, 393–401 (2019).
14. Goadsby, P. J. The vascular theory of migraine—a great story wrecked by the facts. *Brain* **132**, 6–7 (2009).
15. Dux, M., Sántha, P. & Jancsó, G. Capsaicin-sensitive neurogenic sensory vasodilatation in the dura mater of the rat. *J. Physiol.* **552**, 859–867 (2003).
16. Sharav, Y., Katsarava, Z. & Charles, A. Facial presentations of primary headache disorders. *Cephalalgia* **37**, 714–719 (2017).
17. Lopes, D. M., Denk, F. & McMahon, S. B. The Molecular Fingerprint of Dorsal Root and Trigeminal Ganglion Neurons. *Front. Mol. Neurosci.* **10**, (2017).
18. Durham, P. L. & Garrett, F. G. Development of functional units within trigeminal ganglia correlates with increased expression of proteins involved in neuron–glia interactions. *Neuron Glia Biol.* **6**, 171–181 (2010).
19. Lee, Y. *et al.* Coexistence of calcitonin gene-related peptide and substance P-like peptide in single cells of the trigeminal ganglion of the rat: immunohistochemical analysis. *Brain Res.* **330**, 194–196 (1985).
20. Ma, Q.-P., Hill, R. & Sirinathsinghji, D. Colocalization of CGRP with 5-HT1B/1D receptors and substance P in trigeminal ganglion neurons in rats. *Eur. J. Neurosci.* **13**, 2099–2104 (2001).
21. Schueler, M., Neuhuber, W. L., De Col, R. & Messlinger, K. Innervation of Rat and Human Dura Mater and Pericranial Tissues in the Parieto-Temporal Region by Meningeal Afferents. *Headache J. Head Face Pain* **54**, 996–1009 (2014).
22. Fernandes, E. S., Schmidhuber, S. M. & Brain, S. D. Sensory-nerve-derived neuropeptides: possible therapeutic targets. *Handb. Exp. Pharmacol.* 393–416 (2009) doi:10.1007/978-3-540-79090-7_11.
23. Seybold, V. S. The role of peptides in central sensitization. *Handb. Exp. Pharmacol.* 451–491 (2009) doi:10.1007/978-3-540-79090-7_13.
24. Iwata, K. & Shinoda, M. Role of neuron and non-neuronal cell communication in persistent orofacial pain. *J. Dent. Anesth. Pain Med.* **19**, 77–82 (2019).
25. Su, M. & Yu, S. Chronic migraine: A process of dysmodulation and sensitization. *Mol. Pain* **14**, 174480691876769 (2018).
26. Aczél, T. *et al.* Identification of disease- and headache-specific mediators and pathways in migraine using blood transcriptomic and metabolomic analysis. *J. Headache Pain* **22**, 117 (2021).
27. Messlinger, K., Balcziak, L. K. & Russo, A. F. Cross-talk signaling in the trigeminal ganglion: role of neuropeptides and other mediators. *J. Neural Transm.* (2020) doi:10.1007/s00702-020-02161-7.
28. Paramel Mohan, S. & Ramalingam, M. Neuroscience of Peripheral Nerve Regeneration. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **13**, S913–S916 (2021).
29. Hanani, M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. *Brain Res. Rev.* **48**, 457–476 (2005).
30. Liu, Q. *et al.* $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor-mediated anti-inflammatory effect in a chronic migraine rat model via the attenuation of glial cell activation. *J. Pain Res.* **11**, 1129–1140 (2018).
31. Matsuka, Y. *et al.* The role of chemical transmitters in neuron–glia interaction and pain in sensory ganglion. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **108**, 393–399 (2020).
32. Afroz, S. *et al.* CGRP Induces Differential Regulation of Cytokines from Satellite Glial Cells in Trigeminal Ganglia and Orofacial Nociception. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, (2019).
33. Lynch, M. A. The Multifaceted Profile of Activated Microglia. *Mol. Neurobiol.* **40**, 139–156 (2009).

34. Berta, T., Qadri, Y. J., Chen, G. & Ji, R. R. Microglial Signaling in Chronic Pain with a Special Focus on Caspase 6, p38 MAP Kinase, and Sex Dependence. *J. Dent. Res.* **95**, 1124–1131 (2016).
35. Brain, S. D. & Cox, H. M. Neuropeptides and their receptors: innovative science providing novel therapeutic targets. *Br. J. Pharmacol.* **147 Suppl 1**, S202-211 (2006).
36. Garcia-Recio, S. & Gascón, P. Biological and Pharmacological Aspects of the NK1-Receptor. *BioMed Res. Int.* **2015**, 495704 (2015).
37. Muñoz, M. & Coveñas, R. Involvement of substance P and the NK-1 receptor in human pathology. *Amino Acids* **46**, 1727–1750 (2014).
38. Jang, J. H., Nam, T. S., Paik, K. S. & Leem, J. W. Involvement of peripherally released substance P and calcitonin gene-related peptide in mediating mechanical hyperalgesia in a traumatic neuropathy model of the rat. *Neurosci. Lett.* **360**, 129–132 (2004).
39. Diener, H.-C. Rpr100893, A Substance-P Antagonist, is Not Effective in the Treatment of Migraine Attacks. *Cephalalgia* **23**, 183–185 (2003).
40. Goldstein, D., Wang, O., Gitter, B. & Iyengar, S. Dose-Response Study of the Analgesic Effect of Lanepitant in Patients with Painful Diabetic Neuropathy. *Clin. Neuropharmacol.* **24**, 16–22 (2001).
41. Zhang, Y., Lu, L., Furlonger, C., Wu, G. E. & Paige, C. J. Hemokinin is a hematopoietic-specific tachykinin that regulates B lymphopoiesis. *Nat. Immunol.* **1**, 392–397 (2000).
42. Dai, L. *et al.* Hemokinin-1 Stimulates Prostaglandin E₂ Production in Human Colon through Activation of Cyclooxygenase-2 and Inhibition of 15-Hydroxyprostaglandin Dehydrogenase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **340**, 27–36 (2012).
43. Metwali, A., Blum, A. M., Elliott, D. E., Setiawan, T. & Weinstock, J. V. Cutting Edge: Hemokinin Has Substance P-Like Function and Expression in Inflammation. *J. Immunol.* **172**, 6528–6532 (2004).
44. Morteau, O., Lu, B., Gerard, C. & Gerard, N.P. Hemokinin 1 is a full agonist at the substance P receptor. *Nat. Immunol.* **2**, 1088 (2001).
45. Borbély, É. & Helyes, Z. Role of hemokinin-1 in health and disease. *Neuropeptides* **64**, 9–17 (2017).
46. Endo, D., Ikeda, T., Ishida, Y., Yoshioka, D. & Nishimori, T. Effect of intrathecal administration of hemokinin-1 on the withdrawal response to noxious thermal stimulation of the rat hind paw. *Neurosci. Lett.* **392**, 114–117 (2006).
47. Watanabe, C., Mizoguchi, H., Bagetta, G. & Sakurada, S. Involvement of spinal glutamate in nociceptive behavior induced by intrathecal administration of hemokinin-1 in mice. *Neurosci. Lett.* **617**, 236–239 (2016).
48. Fu, C.-Y. *et al.* Hemokinin-1(4-11)-Induced Analgesia Selectively Up-Regulates δ -Opioid Receptor Expression in Mice. *PLoS ONE* **9**, e90446 (2014).
49. Xia, R.-L., Fu, C.-Y., Zhang, S.-F., Jin, Y.-T. & Zhao, F.-K. Study on the distribution sites and the molecular mechanism of analgesia after intracerebroventricular injection of rat/mouse hemokinin-1 in mice. *Peptides* **43**, 113–120 (2013).
50. Sakai, A., Takasu, K., Sawada, M. & Suzuki, H. Hemokinin-1 Gene Expression Is Upregulated in Microglia Activated by Lipopolysaccharide through NF- κ B and p38 MAPK Signaling Pathways. *PLoS ONE* **7**, e32268 (2012).
51. Ando, Y. Expression of hemokinin-1 in rat spinal cord after peripheral inflammation. *Kokubyo Gakkai Zasshi.* **76**, 81-90. (2009).
52. Harriott, A. M., Strother, L. C., Vila-Pueyo, M. & Holland, P. R. Animal models of migraine and experimental techniques used to examine trigeminal sensory processing. *J. Headache Pain* **20**, 91 (2019).
53. Romero-Reyes, M. & Akerman, S. Update on Animal Models of Migraine. *Curr. Pain Headache Rep.* **18**, (2014).
54. Krzyzanowska, A. & Avendaño, C. Behavioral testing in rodent models of orofacial neuropathic and inflammatory pain. *Brain Behav.* **2**, 678–697 (2012).
55. Gregory, N. S. *et al.* An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *J. Pain* **14**, 1255–1269 (2013).
56. Martinez-Garcia, M., Miguelanez-Medran, B. & Goicoechea, C. Animal models in the study and treatment of orofacial pain. *J. Clin. Exp. Dent.* 0–0 (2019) doi:10.4317/jced.55429.
57. Perrino, C. *et al.* Epigenomic and transcriptomic approaches in the post-genomic era: path to novel targets for diagnosis and therapy of the ischaemic heart? Position Paper of the European Society of Cardiology Working Group on Cellular Biology of the Heart. *Cardiovasc. Res.* **113**, 725–736 (2017).
58. Okumura, M. *et al.* Alternation of Gene Expression in Trigeminal Ganglion Neurons Following Complete Freund's Adjuvant or Capsaicin Injection into the Rat Face. *J. Mol. Neurosci.* **42**, 200–209 (2010).
59. Chung, M.-K., Park, J., Asgar, J. & Ro, J. Y. Transcriptome analysis of trigeminal ganglia following masseter muscle inflammation in rats. *Mol. Pain* **12**, 1 (2016).
60. Rollins, B., Martin, M. V., Morgan, L. & Vawter, M. P. Analysis of whole genome biomarker expression in blood and brain. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **153B**, 919–936 (2010).
61. Sullivan, P. F., Fan, C. & Perou, C. M. Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **141B**, 261–268 (2006).
62. Mosallaei, M. *et al.* PBMCs: a new source of diagnostic and prognostic biomarkers. *Arch. Physiol. Biochem.* **0**, 1–7 (2020).

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Az értekezés alapját képező publikációk

Aczél, T. *, Kun, J. *, Szőke, É., Rauch, T., Junttila, S., Gyenesei, A., Bölcskei, K., & Helyes, Z. (2018). Transcriptional Alterations in the Trigeminal Ganglia, Nucleus and Peripheral Blood Mononuclear Cells in a Rat Orofacial Pain Model. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 219. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00219> (IF: 3.720)

Aczél, T., Kecskés, A., Kun, J., Szenthe, K., Bánáti, F., Szathmary, S., Herczeg, R., Urbán, P., Gyenesei, A., Gaszner, B., Helyes, Z., & Bölcskei, K. (2020). Hemokinin-1 Gene Expression Is Upregulated in Trigeminal Ganglia in an Inflammatory Orofacial Pain Model: Potential Role in Peripheral Sensitisation. *International journal of molecular sciences*, 21(8), 2938. <https://doi.org/10.3390/ijms21082938> (IF: 5.923)

Aczél, T. *, Körtési, T. *, Kun, J. *, Urbán, P., Bauer, W., Herczeg, R., Farkas, R., Kovács, K., Vásárhelyi, B., Karvaly, G. B., Gyenesei, A., Tuka, B., Tajti, J., Vécsei, L., Bölcskei, K., & Helyes, Z. (2021). Identification of disease- and headache-specific mediators and pathways in migraine using blood transcriptomic and metabolomic analysis. *The journal of headache and pain*, 22(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s10194-021-01285-9> (IF: 7.277)

Az értekezés alapját képező publikációk kumulatív impakt faktora: **16.92**

Egyéb eredeti publikációk

Takács-Lovász, K., Kun, J., **Aczél, T.**, Urbán, P., Gyenesei, A., Bölcskei, K., Szőke, É., & Helyes, Z. (2022). PACAP-38 Induces Transcriptomic Changes in Rat Trigeminal Ganglion Cells Related to Neuroinflammation and Altered Mitochondrial Function Presumably via PAC1/VPAC2 Receptor-Independent Mechanism. *International journal of molecular sciences*, 23(4), 2120. <https://doi.org/10.3390/ijms23042120> (IF: 5.923)

Nemes, B., Bölcskei, K., Kecskés, A., Kormos, V., Gaszner, B., **Aczél, T.**, Hegedüs, D., Pintér, E., Helyes, Z., & Sándor, Z. (2021). Human Somatostatin SST4 Receptor Transgenic Mice: Construction and Brain Expression Pattern Characterization. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3758. <https://doi.org/10.3390/ijms22073758> (IF: 5.923)

Kovács-Ábrahám, Z., **Aczél, T.**, Jancsó, G., Horváth-Szalai, Z., Nagy, L., Tóth, I., Nagy, B., Molnár, T., & Szabó, P. (2021). Cerebral and Systemic Stress Parameters in Correlation with Jugulo-Arterial CO₂ Gap as a Marker of Cerebral Perfusion during Carotid Endarterectomy. *Journal of clinical medicine*, 10(23), 5479. <https://doi.org/10.3390/jcm10235479> (IF: 4.241)

Pohóczky, K., Kun, J., Szentés, N., **Aczél, T.**, Urbán, P., Gyenesei, A., Bölcskei, K., Szőke, É., Sensi, S., Dénes, Á., Goebel, A., Tékus, V., Helyes, Z. Discovery of novel targets in a Complex Regional Pain Syndrome mouse model by transcriptomics: TNF and JAK-STAT pathways. *Under revision in Pharmacological research.* (IF:7.68)

Az összes publikáció kumulatív impakt faktora: **33.007**

Hivatkozások száma (MTMT): 15

Hivatkozások száma (Google Scholar): 28

Értekezéshez kapcsolódó szóbeli előadások

2019- European Pain School (EPS), Siena, Italy

Investigation of gene expression changes in animal models of trigeminal sensitisation

Timea Aczél, Angéla Kecskés, Éva Szőke, József Kun, Balázs Gaszner, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2018 – III. Neuroscience Center PhD and TDK Conference, Pécs, Hungary

Génexpresszió-változások vizsgálata trigeminális szenzitizációban (III. díj)

Timea Aczél, József Kun, Eva Szőke, Tibor Rauch, Sini Junttila, Attila Gyenesei, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes

2018 – Pain Mechanisms and Therapeutics Conference, Taormina, Sicily
Temporal changes of gene expression in trigeminal ganglia, trigeminal nucleus caudalis and peripheral blood mononuclear cells in a rodent orofacial pain model.

Timea Aczél, József Kun, Éva Szőke, Tibor Rauch, Sini Junttila, Attila Gyenesi, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes

Egyéb szóbeli előadások

2016 – V. Interdisciplinary Doctoral Conference, Pécs, Hungary

Cortical spreading depression-induced blood flow changes measured by Laser Speckle Contrast imaging in Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) and Vanilloid 1 (TRPV1) deficient mice

Timea Aczél, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes, Erika Pintér

2014 – VI. EFIS-EJI South Eastern European Immunology School (SEEIS2014), Timisoara, Romania

Cardiomyocyte inflammation model in Sirt3 - / - mouse

Timea Aczél, Manuel Vázquez-Carrera, Xavier Palomer, Előd Nagy

2014 – The 21st Students' Scientific Conference, Târgu Mures, Romania

Sirt3^{-/-} egér szívizomsejt hipertrófia-gyulladás modellje (I. díj)

Timea Aczél, Manuel Vázquez-Carrera, Xavier Palomer, Előd Nagy

Értekezéshez kapcsolódó poszter prezentációk

2019 – Magyarországi Fájdalom Társaság Konferenciája, Szeged, Hungary

Tac4 szerepének vizsgálata orofaciális és dura gyulladással kiváltott trigeminális szenzitizáció állatmodelljeiben

Timea Aczél, Angéla Kecskés, Éva Szőke, József Kun, Balázs Gaszner, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2019 – The 7th Mediterranean Neuroscience Conference, Marrakesh, Morocco

Hemokinin-1 is involved in trigeminal sensitization

Timea Aczél, Angéla Kecskés, Éva Szőke, József Kun, Balázs Gaszner, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2019 – III. Gyógyszer Innovációs Kongresszus, Gárdony, Hungary

Orofaciális gyulladással kiváltott génexpressziós változások Tac4 génhányos egerekben

Timea Aczél, Éva Szőke, József Kun, Anikó Perkecz, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2017 – ÉFM Vándorgyűlése, Debrecen, Hungary

Trigeminális neuronok és perifériás leukociták génexpresszió-változásai patkány orofaciális fájdalommodellben (MÉT fődíj)

Timea Aczél, József Kun, Éva Szőke, Tibor Rauch, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes

2017 – 7th BBBB International Conference on Pharmaceutical Sciences, Balatonfüred, Hungary

Time course of gene expression changes in trigeminal neurones and peripheral blood mononuclear cells in a rat orofacial pain model

Timea Aczél, József Kun, Éva Szőke, Tibor Rauch, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes

2017 – Federation of European Neuroscience Societies FENS Regional Meeting, Pécs, Hungary

Gene expression analysis of trigeminal ganglia and peripheral blood mononuclear cells in a rat orofacial pain model

Timea Aczél, József Kun, Éva Szőke, Tibor Rauch, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes

Egyéb poszter prezentációk

2018 – Association of Medical Schools in Europe Conference, Pécs, Hungary

Role of sirtuin 1 activation in trigeminal sensitization

Timea Aczél, Maja Payrits, Éva Szőke, József Kun, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2018 – FAMÉ Vándorgyűlése, Szeged, Hungary

A sirtuin 1 aktiváció szerepe trigeminális neuronok szenzitizációjában

Timea Aczél, Maja Payrits, Éva Szőke, József Kun, Zsuzsanna Helyes, Kata Bölcskei

2016 – FAMÉ Vándorgyűlése, Pécs, Hungary

Agykérgi kúszó depolarizáció által kiváltott perfúzióváltozások és a Tranzien Receptor Potenciál Ankyrin 1 (TRPA1) és Vanilloid 1 (TRPV1) ioncsatornák szerepének vizsgálata egérmodellben

Timea Aczél, Kata Bölcskei, Zsuzsanna Helyes, Erika Pintér