

A KAPSAICIN-ÉRZÉKENY ÉRZŐIDEG VÉGZÖDÉSEK ÉS A SZEMIKARBAZID-  
SZENZITÍV AMIN OXIDÁZ SZEREPE EGÉR TUMOR MODELLEKBEN

DOKTORI (Ph.D) értekezés



**MÓRICZNÉ BENCZE NOÉMI**

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Doktori iskola vezető: Prof. Dr. Pintér Erika

Program: Neuroimmun kölcsönhatások szerepe a fájdalomban és gyulladásban

Program és témavezető: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs

2025.

## Bevezetés

### 1. A daganatos betegségek, mint terápiás kihívás

A daganatos megbetegedések világszerte, így Magyarországon is jelentős népegészségügyi kihívást jelentenek. Az előfordulási és halálozási adatok növekedése, valamint a daganatok sokszínű biológiai viselkedése indokoltá teszi a kutatások intenzitását. Az oszteoszarkóma (OS), az emlődaganat és a melanoma különböző immunogenitású, vaszkularizáltságú és mikrokörnyezeti sajátosságú tumorok, amelyek kiemelt figyelmet érdemelnek a gyógyítási nehézségek és a magas halálozási ráta miatt (1). Az **oszteoszarkóma** (OS) fiatal felnőtteket és serdülőket érintő primer csontrák, melynek kezelése műtét és kemoterápia kombinációján alapul. A daganat biológiája, genetikai instabilitása és kemorezisztenciája miatt új, célzott és molekuláris szinten ható kezelésekre van szükség. Leggyakrabban a hosszú csőves csontok metafizisének közelében, különösen a femur disztális és a tibia proximális végén fordul elő. A daganat a mesenchymalis őssejtekből (MSC) származik, amelyek az oszteogén differenciáció irányába fejlődnek, és feltételezések szerint az MSC-k preoszteoblaszt irányú differenciációjának valamely szakaszában, illetve az osteoblast prekursorokból alakul ki (2). Az **emlődaganat** nők körében a leggyakoribb rosszindulatú daganat, melynek heterogenitása (hormonreceptor-, HER2-státusz) komplex kezelési stratégiákat igényel. Az emlőtumorok általában a duktális csatornák túlzott proliferációjából indulnak ki, progressziójában a tumor mikrokörnyezete, például a stromális sejtek hatásai vagy a makrofágok kulcsfontosságú szerepet játszanak (3). Az emlődaganat kezelését számos tényező határozza meg, beleértve a daganat típusát, stádiumát, hormonreceptor-státuszát, HER2 státuszát, a beteg általános egészségi állapotát és preferenciáit. Korábbi kutatások rámutattak, hogy a kapszaicinre érzékeny afferens idegrostok daganatellenes és immunrendszert befolyásoló hatásokkal bírnak, bár ezeknek a hatásoknak a pontos mechanizmusa még nem teljesen ismert. Számos tanulmány igazolta a kapszaicin antitumorális hatását, amelyet többek között apoptózist elősegítő, sejtciklust gátló és érképződést csökkentő (antiangiogén) tulajdonságainak tulajdonítanak (4–6). Tekintettel arra, hogy a TNBC típusú daganatok erősen támaszkodnak az új erek kialakulására, az általunk alkalmazott 4T1 sejtvonal felhasználásával létrehozott ortotópiás egérmodell kiválóan alkalmas a tumor növekedésének és annak mikrovaskuláris sajátosságainak vizsgálatára. A **melanoma**, a bőrdaganatok egyik legagresszívabb formája mely immunogén tulajdonságai miatt az immunterápiák és molekulárisan célzott kezelések fejlesztésének egyik kulcsterülete. A melanociták a bőr bazális rétegében található pigmenttermelő sejtek, amelyek melaninnal telt melanoszómákat juttatnak el a szomszédos

keratinocitákhoz, így védelmet biztosítanak az ultraibolya (UV) sugárzás káros hatásaival szemben. A melanoma képes kikerülni az immunrendszer felügyeletét gyulladáso és immunszuppresszív molekulák szekréciója, gátló receptorok expressziója, valamint tolerogén citokinek kibocsátása révén, amellyel immunelkerülő mikroklímát alakít ki. Emellett az oxigén- és tápanyaghiány leküzdése érdekében angiogenezist indukál, ezáltal támogatva a tumor növekedését. Ez a többlépcsős, összetett folyamat nagy kihívást jelent mind a kutatók, mind a klinikusok számára, mivel nehezíti a melanoma pontos diagnózisát és kezelését (7). A melanoma az egyik legimmunérzékenyebb daganat, ezért az immunterápia – különösen a checkpoint-gátló antitestek – kulcsszerepet játszanak kezelésében. A terápia hatékonyságát nagymértékben befolyásolja az effektorsejtek bejutása a daganatszövetbe, amelyhez az endotélsejtek adhéziós molekuláinak expressziója elengedhetetlen. A célzott terápiák, mint a BRAF-inhibitorok és a vírus alapú kezelések, valamint az új fejlesztések – például mRNS vakcinák – a betegség jobb megértésén alapulva ígéretes irányt jelentenek (8).

## 2. Daganatos betegségek modellezési lehetőségei

Az OS megértéséhez és kutatásához új modellrendszerek kidolgozására van szükség, melyek lehetőséget nyújtanak a részletesebb tanulmányozására, valamint az új terápiás megközelítések tesztelésére preklinikai kísérletekben. Az elsőként létrehozott és máig gyakran alkalmazott OS sejtvonal, az általunk is használt K7M2 sejtvonal, mely BALB/c egerekben spontán kialakuló tüdőáttétes OS-ból származik (9). A kutatási célkitűzéstől függően egyéb rágcsláló OS sejtvonalak is léteznek, például az LM8 és a Dunn sejtvonal (10). Más állatmodellek, például zebradánió-modellek is egyre gyakrabban kerülnek alkalmazásra. Emellett számos humán OS sejtvonalat is sikeresen létrehoztak, többek között az MG63, SaOS és 143B vonalakat (9). Az **emlőrák** rendkívül heterogén betegség, és még egyazon daganaton belül is jelentős heterogenitás figyelhető meg. A legszélesebb körben alkalmazott modell állatok egerek és patkányok, de nem emlős, például zebradániók is felhasználásra kerülhetnek. A xenograft modellek különösen elterjedtek, mivel humán daganatok viselkedését tanulmányozhatják velük *in vivo*. Az általunk használt 4T1 egér sejtek BALB/c egerekből származó emlődaganatsejtekből lettek kitenyésztve, és allograftként beültetve spontán áttétképző képességgel rendelkeznek. Ennek az állatmodellnek a betegségfolyása klinikailag hasonlít az előrehaladott, rosszindulatú humán emlőrákra (11,12), ezért a 4T1 emlőrák áttétképződési modellt széles körben alkalmazzák preklinikai kutatásokban (13,14). A **melanoma** kialakulásának és progressziójának jobb megértéséhez különböző komplexitású, optimalizált tumormodellek alkalmazása szükséges. A legegyszerűbb és leggyakrabban használt kísérleti

modellek a 2D sejtenyészetek (pl. melanoma sejtvonalak monokultúrái), melyek lehetővé teszik sok kísérleti feltétel gyors vizsgálatát, bár nem tükrözik megfelelően az in vivo környezet komplexitását. A leggyakrabban alkalmazott állatmodellek zebradánió és egérmodellek, melyeket széles körben alkalmaznak a melanoma in vivo vizsgálatára, és jelentős ismereteket szolgáltatnak a komplex daganattípus biológiájáról. Számos különböző kután melanoma egérmodellt fejlesztettek már ki, köztük az általunk is alkalmazott B16 melanoma allograft modell, ami egy spontán módon kialakult melanoma tumorból származik, melyet C57BL/6 egértörzsből izoláltak (15,16).

### **3. A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) és ankyrin 1 (TRPA1) receptorok és a kapszaicin érzékeny idegvégződés szerepe**

A tranziens receptor potenciál (TRP) közvetlenül kationcsatornához kapcsolt receptorcsalád legismertebb tagjai közé tartozik a TRPV1 és a TRPA1, amelyek nemcsak az elsődleges érzőneuronok sejttestein és perifériás végződésein (pl. hátsó gyöki és trigeminus ganglionokban), hanem számos nem idegi sejttypuson is funkcionálisan expresszálódnak (17,18). A TRPV1 ioncsatorna a TRP család tagja, mely különböző fizikai és kémiai ingerek érzékelésében játszik kulcsszerepet, és kiemelten fontos a nociceptív érzékelés, gyulladásos folyamatok és különféle kórélettani mechanizmusok szabályozásában. A TRPV1 szerkezetét tekintve egy 838 aminosavból álló, hat transzmembrán doménnel (S1–S6) rendelkező fehérje, amelynek ionáteresztő pórusa az S5 és S6 szegmensek között kialakuló hurokban található. A csatorna ionvezető képessége révén főként kalcium- és nátriumionokat enged át, amelyek intracelluláris jelátviteli útvonalakat aktiválnak (19). A TRPV1 legjelentősebb exogén aktivátora a kapszaicin, a csípős paprika hatóanyaga. A TRPV1 elsősorban a primer érzőneuronokon expresszálódik, de jelen van nem idegi sejtekben is, mint például keratinocitákban (20,21), hízósejtekben (22), limfocitákban (23), kondrocitákban vagy a gasztrointesztinális rendszer sejtjeiben (24). A TRPV1 működését számos exogén és endogén agonista, illetve fizikokémiai inger szabályozza. A legjelentősebb exogén aktivátorok a kapszaicin, a reziniferatoxin (RTX), valamint az allicin, amelyek a receptor „vanilloid-zsebéhez” (S3–S4 régió között, S505–T550) kötődnek. A kapszaicin nem csak aktiválja, hanem deszenzibilizálja is a receptorát (25). A TRPV1-et emellett különböző állati toxinok (pl. skorpió- és pók-mérgek) is aktiválhatják. Az endogén aktivátorok közé tartoznak az endokannabinoidok (pl. anandamid, N-arachidonildopamin), az arachidonsav származékai, valamint a protonok (pH <6) és a fájdalmas hőinger (>43 °C), érzékenyítésében szerepet játszanak a prosztaglandinok (26) és a bradikinin (27). A nem szelektív gátlók közé tartozik a

ruténium vörös és a kapszazepin (28). A receptor szelektív gátlása fontos szerepet játszhat a fájdalomcsillapításban, különösen gyulladásos és neuropátiás fájdalom esetén, hatékony és szelektív gátló az SB366191 (29) és az AMG 517 (30). Hatékony antagonistá még a JNJ-17203212, amely *in vitro* és *in vivo* modellekben is csökkentette a fájdalomérzékenységet, ugyanakkor hasonló hőszabályozási mellékhatásokat váltott ki (31). A TRPA1 szerkezete hasonló a TRPV1 receptoréhoz, azonban az emlősökben eddig azonosított TRP receptorok közül a TRPA1 rendelkezik a legtöbb, szám szerint 17 ankyrin ismétlődő doménnel az N-terminális régióban. Ez az ioncsatorna széles aktivációs spektrummal rendelkezik, amit számos exogén (pl. fahéjaldehid, allil-izotiocianát AITC, illetve alacsony hőmérséklet  $<17^{\circ}\text{C}$ ) és endogén irritáló vagy gyulladásos mediátor (pl. formalin, hidrogén-peroxid) képes aktiválni. (32). Az endogén aktivátorok például a 4-hidroxi-2-nonenal (33), a hidrogén-szulfid (34), a 15-delta-prostaglandin J2 (35), valamint a szemikarbazid-szenzitív amin-oxidáz (SSAO) termékek, úgymint formaldehid (36), hidrogén-peroxid (37) és metilglioxál. A TRPA1 csatornák működésének szabályozásában számos antagonistá vegyület játszik szerepet (HC-030031, SzV-1287) (38,39).

#### **4. A kapszaicin-érzékeny érzőideg végződés**

Kutatócsoportunk az 1970-es évektől kezdődően vizsgálja a vékony mielinhüvelyes (A $\delta$ ) és nem mielinizált (C) érzőrostok egyik specifikus csoportját, az úgynevezett kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződéseket, valamint a rajtuk elhelyezkedő ionotróp TRP receptorokat. A TRPV1 és TRPA1 receptorokat kifejező nociceptorok a perifériás afferens idegrostok egy speciális alcsoportját alkotják. Ezek az úgynevezett peptiderg, kapszaicin-érzékeny szenzoros idegvégződések az A $\delta$ - és C-rostok mintegy 40–50%-át teszik ki. Különlegességük abban rejlik, hogy egyedülálló módon hármas szerepet töltenek be: az afferens funkciójuk mellett lokális és szisztémás efferens hatásokat is képesek kifejteni. Az utóbbi időben egyre több bizonyíték utal arra, hogy ezek a csatornák nem csak a tumoros fájdalom csökkentésében, hanem a daganatképződésben és a tumorok előrehaladásában is szerepet játszanak. Az elmúlt évtizedben számos tanulmány igazolta, hogy különböző ioncsatornák, köztük a TRP csatornák, expresszálódnak humán daganatokban, és ezek szerepet játszhatnak több sejtes folyamatban, például a proliferációban, migrációban és invázióban (40,41).

#### **5. TRPA1 és TRPV1 csatornák expressziója és szerepe daganatos megbetegedésekben**

A TRPV1 receptor funkcionális expresszióját számos daganattípusban kimutatták, többek között humán emlődaganat sejtvonalakban (MCF-7, BT-20), papilláris pajzsmirigy-karcinóma

(BCPAP), prosztatata adenokarcinóma (LNCaP, PC-3) (42), urotheliális karcinóma (43), valamint glioma sejtekben is (44). Preklinikai egérmodellekben a TRPV1 antagonisták, például a kapszazepin vagy a reziniferatoxin csökkentették a tumor által kiváltott fájdalmat, így valószínűsíthető, hogy a TRPV1 szerepet játszik a tumorhoz kapcsolódó hiperalgéria kialakításában is. Továbbá bizonyították, hogy TRPV1 expresszió megtalálható a femurt beidegző szenzoros neuronokban, és a receptor gátlása vagy génjének elnyomása csökkentette a fájdalmi reakciókat egérmodellekben (45). Összességében elmondható, hogy a TRPV1 csatorna mind tumorsejt-proliferáció, mind daganat-asszociált fájdalom szempontjából kritikus szereplő, ezért ígéretes célpontként szolgálhat a daganattellenes és fájdalomcsillapító terápiák fejlesztésében. A **TRPA1** expresszióját több daganattípusban is kimutatták. Saját munkacsoportunk korábban sikeresen kimutatta a TRPA1 és TRPV1 expresszióját K7M2 osteoszarkóma sejtvonalon RNA scope in situ hibridizációs technikával (46). Eredményeink alapján feltételezhető, hogy TRPA1-expresszió az emlőrák okozta fájdalom kialakulásában is szerepet játszhat, például az emlőtumor szövetekben kimutatott jelenlétével. Mindezek alapján a TRPA1 receptor is ígéretes célpontként merül fel új fájdalomcsillapító gyógyszerek fejlesztéséhez, különösen olyan kórképekben, mint a csontdaganatokhoz társuló fájdalom.

## **6. A szemikarbazid-szenzitív amin oxidáz (SSAO) és szerepe tumorgenezishez kapcsolódó folyamatokban**

Az SSAO, más néven vaszkuláris adhézions protein-1 (VAP-1), a réztartalmú amin-oxidáz enzimek családjába tartozik, és a primer aminok oxidatív dezaminációjáért felelős a szervezetben. E biokémiai reakció során aldehid, hidrogén-peroxid és ammónia keletkezik, mint végtermékek (47). Az elmúlt 15 év során intenzív kutatások irányultak különféle kis molekulájú SSAO-inhibitorok kifejlesztésére terápiás célból, azonban klinikai alkalmazását korlátozták különféle tényezők. Egyes gátlószerek nem rendelkeztek megfelelő szelektivitással, mivel más amin-oxidázokat, például a MAO-t is gátolták, míg mások nem megfelelő fizikokémiai tulajdonságokkal bírtak, például rossz oldhatósággal vagy toxikus szerkezeti jellemzőkkel (48). A kis molekulájú SSAO-gátlók két fő típusa ismert: irreverzibilis és reverzibilis inhibitorok (49). A szelektív irreverzibilis gátlószerek közül több hatóanyagot is alaposan tanulmányoztak, ide sorolhatók például a hidrazin, allilamin és oxim típusú vegyületek. A LJP-1207 (N'(2-fenil-allil) -hidrazin hidroklorid) és a BTT-2052 (1S,2S-2-(1-metilhidrazinil) -2,3-dihidro-1H-inden-1-ol) hatékonynak bizonyultak különféle rágszáló gyulladás modellekben, ám toxicitásuk miatt nem alkalmazhatóak klinikai fejlesztésre (49,50).

## 7. Új, több támadáspontú SSAO-gátló vegyület: SzV-1287

Az új, munkacsoportunk által szabadalmaztatott, komplex hatásmechanizmusú SSAO-gátló vegyület, az **SzV-1287** (3-(4,5-dipheyl-1,3-2-yl) propanal oxime) az ismert ciklooxygenáz (COX)-inhibitor oxaprozin oxim analógja (51). Az SzV-1287 egy innovatív, metabolizmus-aktivált, több támadásponton ható vegyület, amely lényegében aktív prodrug-ként működik. Kémiai szerkezetét úgy alakították ki, hogy elsősorban savi körülmények között (gyulladás, hipoxia) oxaprozin nevű COX-gátló aktív metabolittá alakuljon, miközben az anyamolekula irreverzibilis SSAO-gátló aktivitással is rendelkezik. Kutatócsoportunk emellett azt is igazolta, hogy az SzV-1287 nemcsak az SSAO-enzimet gátolja, hanem közvetlen gátló hatást fejt ki az érőidegsejteken elhelyezkedő TRPA1 és TRPV1 ioncsatornákra is (39). Az SzV-1287 egyedülálló, úgynevezett „metabolism-activated multi-target drug” (MAMUT) (51). Ez az új gyógyszerfejlesztési megközelítés számos állatkísérletes gyulladás és fájdalom modellekben hatékonynak bizonyult. Az SzV-1287 gyulladáscsökkentő hatását kimutatták mind akut (karragenin-indukált), mind krónikus CFA gyulladásai modellekben(52–54). Az SzV-1287 gyógyszerfejlesztési folyamata 2016-2020-ig a preklinikai vizsgálatokkal kezdődött, melyek pozitív eredménnyel zárultak, jelenleg a humán fázis IA (single ascending dosing; egyszeri adagolás) is sikeresen lezajlott (Szabadalom szám: [WO/2015/159/112](#), [WO/2010/029/379A1](#)).

## CÉLKITŰZÉSEK

A különböző tumoros megbetegedések világszerte a vezető halálozási okokhoz sorolhatóak és komoly terápiás kihívást jelentenek. Mivel a TRPA1 és V1 ioncsatonák, valamint a kapszaicin-érzékeny peptiderg érzőideg végződésük által közvetített szenzoros-vaszkuláris-immun interakciók potenciális új tumorellenes támadáspontot jelenthetnek, munkámban ezek szerepét vizsgáltam különböző immunogenitású és vaszkularizáltságú tumor modellekben.

Munkánk specifikus célkitűzései a következők voltak:

- I. *Kapszaicin-érzékeny peptiderg érzőidegrendszer szerepének komplex vizsgálata különböző vaszkularizáltságú és immunogenitású tumorok*
  - 1) *oszteoszarkóma*
  - 2) *emlő adenokarcinóma*
  - 3) *melanoma**egérmodelljeiben RTX -deszenzitizáció segítségével.*
- II. *A szenzoros-vaszkuláris-immun interakciókban szerepet játszó, összetett hatásmechanizmusú SSAO-gátló, TRPA1 és V1 antagonistá SzV-1287 vizsgálata ezekben az in vitro és in vivo tumormodellekben.*

## KÍSÉRLETI MODELLEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

### 1. Kísérleti állatok

Kísérleteinkben 20-30 g súlyú, 8-10 hetes hím és nőstény Balb/c és C57Bl/6J egereket használtunk. Az állatokat standard méretű polikarbonát ketrecekben (330 × 160 × 130 mm, 5-7 egér/ketrec vagy 330 × 100 × 130 mm, 2-5 egér/ketrec) helyeztük el, és standard rágszálóval (LT/n, Szinbád Kft., Gödöllő), valamint csapvízzel ad libitum láttuk el. Az állattartás 24-25 °C-on, 50-60% relatív páratartalommal, 12-12 órás sötétvilágos ciklusban történt. Minden kísérletes protokollt a PTE MÁB, illetve az ÁTET jóváhagyott (engedélyszám: engedélyszámok: BA/73/00656-8/2024 és (BA02/2000-23/2016)), 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.

## **2. Kísérleti modellek**

### **2.1. OS modell**

A K7M2 sejtek tenyésztése DMEM táptalajban történt, 37 °C-on, 5%-os szén-dioxid tartalmú, párasított légkörben. A sejteket 80-90%-os konfluencia elérésekor passzáltuk. Az egerek (Balb/c) altatása Nátrium-pentobarbitál (Euthanimal, Alfasan Netherland BV) intraperitoneális injekciójával történt. A jobb hátsó végtag leborotválása után egy kis bemetszést ejtettünk a tibián, majd egy kis nyílást készítettünk 27G-s tű segítségével. Ezt követően  $5 \times 10^5$  K7M2 sejtből álló szuszpenziót (10 µL PBS-ben) injektáltunk a csontdefektusba Hamilton pipetta segítségével. Az álműtött csoport daganatsejtek helyett csak PBS-t kapott. A K7M2 sejtek intratibiális injekcióját követően a mechanonociceptív küszöbértéket, a sípcsont átmérőjét, a spontán fájdalmi viselkedést, a dinamikus súlyterhelést, valamint a csontszerkezeti elváltozásokat (mikro-CT segítségével) az adott időpontokban vizsgáltuk.

### **2.2. Emlő adenokarcinóma modell**

A luciferázzal (firefly luciferase) transzfektált 4T1 tumorsejteket sejttenyészetben felszaporítottuk, majd in vivo beültetésre készítettük elő. Az állatokat intraperitoneális injekcióval altattuk, majd a BALB/C egerek negyedik emlőmirigyének zsírszövetébe (ortotópikusan)  $1 \times 10^6$  4T1 sejtet tartalmazó 50 µl 1:1 arányú Matrigel®–PBS oldatot injektáltunk szubkután, egy Hamilton fecskendő segítségével. (55). A 9 napos kísérletünk során, az állatok általános állapotát és súlyát minden nap ellenőriztük. A kísérleti elrendezésünk magában foglalja az RTX előkezelést, a 4T1 sejtek injektálását, valamint a daganatnövekedés és -aktivitás nyomon követését.

### **2.3. Melanoma modell**

A C57Bl/6 egerek altatását követően szubkután injekcióval  $1 \times 10^5$  A B16F10 melanoma sejtet juttatunk a bőr alá steril HBSS-ben oldva (Hanks-féle kiegyensúlyozott sóoldat). A tumorsejtek injekciója után az állatok általános állapotát és súlyát kétnaponta mértük. A daganat növekedését elektronikus tolómérővel (Mitutoyo, Kawasaki, Japán), illetve mágneses rezonanciás képalkotással (MRI) követtük nyomon.

### **3. Farmakológiai módszerek**

#### **3.1. RTX- előkezelés**

A kapszaicin-érzékeny szenzoros neuronok hosszú távú deszenzibilizációját szisztémás RTX (Sigma Aldrich) kezeléssel végeztük (10, 20, 70 és 100 µg/kg RTX subkután injekciója négy egymást követő napon). Az idegvégződés funkciójának kiesését a szemtörlés hiányával igazoltuk 10 µl 0,1%-os kapszaicin szembe cseppentése után (41).

#### **3.2. SzV-1287 és LJP-1207 kezelés**

Az SzV-127 és a referencia SSAO-gátló vegyület, LJP-1207 hatását 3 féle tumor modellben (oszteosarkóma, emlőtumor és melanoma) vizsgáltuk. A vegyületek szintézise az SE Szerves Vegytani Intézetében, a korábban leírtak szerint történt (48). LJP-1207-et desztillált vízben, SzV-1287-et 20% Kolliphor HS 15 (polietilén-glikol-15-hidroxisztearaát) és 80% desztillált vizet tartalmazó vivőanyagban alkalmaztuk. A 2 mg/ml és 5mg/ml koncentrációjú oldatokat minden alkalommal frissen, közvetlenül a beadás előtt készítettük. A vegyületeket naponta i.p. alkalmaztuk 20 mg/kg, illetve 50 mg/kg dózisban, amelyet intézetünk korábban publikált vizsgálatai alapján választottuk (54,56–58). A kezeléseket intraperitoneálisan alkalmaztuk, minden nap, az adott mérési eljárások előtt minimum fél órával.

### **4. Vizsgálati módszerek**

#### **4.1. ATP (adenozin-trifoszfát) - alapú sejt életképességi vizsgálat**

Az ATP-alapú sejt vitalitási vizsgálat a metabolikusan aktív sejtek ATP-tartalmát méri, így alkalmas a sejtek életképességének és citotoxicitásának értékelésére. A CellTiter-Glo® lumineszcens teszttel 96 lyukú lemezen tenyésztett sejteket vizsgáltunk különböző koncentrációjú SSAO-gátló (SzV-1287) kezelések után, a lumineszcencia mértéke alapján számítva a sejtek életképességét. A kontrollként használt DMSO-koncentráció megegyezett a kezelt minták oldószertartalmával, így biztosítva a korrekt összehasonlítást.

#### **4.2. Dinamikus Plantáris Eszteziométer (DPA)**

A mechanonociceptív küszöb méréséhez dinamikus plantáris eszteziométert alkalmaztunk, amely fokozatosan növekvő nyomást gyakorolt az egerek hátsó talppárnájára. A fájdalomküszöböt az elhárító reflex alapján határoztuk meg, az erőértéket grammban rögzítve. Minden hátsó végtagon három-három mérést végeztünk, az eredményeket átlagoltuk, és a

fájdalomküszöb változását a kiindulási értékekhez viszonyított százalékos eltérésként számoltuk.

#### **4.3. Dinamikus végtagterhelés mérése**

Az artikuláris nocicepció értékelésére dinamikus súlyeloszlás-mérőt (DWB) használtunk, amely rögzíti, hogy az egerek hátsó végtagjai milyen súlyt és felületet terhelnek a padlón. Az állatok 5 percig szabadon mozoghattak a szenzoros kamrában, miközben a rendszer valós időben elemezte mozgásukat. Az adatokat manuálisan ellenőriztük, és a jobb és bal hátsó végtag relatív terhelését százalékos formában hasonlítottuk össze.

#### **4.4. Spontán fájdalom paraméterek mérése**

A spontán fájdalom viselkedéses jeleinek értékeléséhez az egereket plexi ketrecekbe helyeztük, majd 30 perc akklimatizáció után 2 percig megfigyeltük őket. Két típusú fájdalomhoz köthető viselkedést rögzítettünk: a flinching reakciók számát (hirtelen végtagrángás), illetve a guarding viselkedés időtartamát (a végtag passzív visszahúzása a test alá). Ezek az önkéntes fájdalomreakciók objektív információt adnak a fájdalom szintjéről.

#### **4.5. Tumor méret változásának mérése**

A térdek anteroposzterior és mediolaterális átmérőit digitális mikrométerrel mértük, majd a műtét előtti értékekhez viszonyított változást százalékban számítottuk ki. Az emlőtumor és melanoma méretváltozását digitális mérőeszközzel napi rendszerességgel követtük, a daganatok hosszúságát, szélességét és magasságát rögzítve. A tumorok térfogatát standard képlet alapján számoltuk, a növekedést az időbeli méretváltozás alapján értékeltük.

#### **4.6. Csontstruktúra vizsgálatok**

Oszteoszarkóma kísérletünkben a jobb oldali proximális tibia csontjainak szerkezeti változásait in vivo mikro-CT-vel követtük a 0., 17. és 28. napon. A vizsgálatot 17,5 µm-es voxelmérettel, ketamin–xilazin altatásban végeztük, a kapott felvételek elemzését CT Analyser® szoftverrel, azonos ROI-k kijelölésével végeztük. A mért paraméterek közé tartozott a csonttérfogat és a szerkezeti jellemzők változása.

#### **4.7. Biolumineszcens képalkotás**

A transzfektált 4T1 sejtek beoltása után az állatokon az 1., 3. és 8. napon biolumineszcens képalkotást végeztünk az IVIS Lumina III rendszerrel. A „firefly-luciferáz” enzimet

expresszáló sejtek D-luciferin beadása után fényt bocsátanak ki, amit a képalkotó rendszer rögzít. A képeket egységes beállításokkal készítettük, a lumineszcens jelet tartalmazó ROI-kat automatikusan kijelöltük, és a kvantitatív elemzéshez a teljes radianciát használtuk.

#### **4.8. Mágneses rezonanciás képalkotás (MRI)**

Az emlőtumor és melanoma növekedését MRI képalkotással követtük nyomon, előbbinél a 2. és 6., utóbbinál a 12. és 19. napon. A vizsgálatot Bruker PharmaScan® 4.7 T kisállat-MRI készülékkel, T2-RARE szekvenciával végeztük, izoflurán altatás mellett. Az MRI-felvételek térfogatelemzéséhez a 3D-Slicer szoftvert használtuk.

#### **4.9. Proteázaktivitás és a tumor érhalózatának fluoreszcens vizsgálata**

Az emlődaganatokra jellemző fokozott proteázaktivitás és a tumorvaszkularizáció vizsgálatára ProSense 680, illetve AngioSense fluoreszcens próbákat alkalmaztunk, a FMT 2000 rendszerrel. A próbákat altatás alatt, intravénásan adtuk be, majd a szőrtelenített területen 24 órával később végeztünk háromdimenziós fluoreszcens tomográfiát. A tumorterületen megjelenő jelintenzitást a TrueQuant szoftver automatikusan elemezte, és az értékeket pikomólban rögzítettük.

#### **4.10. Neuropeptid-koncentrációk radioimmunoassay (RIA) alapú meghatározása**

A CGRP, szomatosztatin és Substance P koncentrációját emlődaganat-szövetek homogenizátumaiból radioimmunoassay (RIA) módszerrel határoztuk meg. A mérésekhez radioaktívan jelölt peptideket, specifikus ellenanyagokat és standardokat használtunk, a mintákat 48–72 órán át 4 °C-on inkubáltuk. A szabad és kötött frakciókat centrifugálással választottuk szét, majd a radioaktivitást gamma-számlálóval mértük, az eredményeket fmol/mg szövetként adtuk meg (SOM-LI, CGRP-LI, SP-LI formában).

#### **4.11. Szövettani vizsgálatok**

##### **Gliasejtes immunhisztokémia**

Az oszteoszarkóma modellben a központi idegrendszeri gliasejtek aktivációját immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk a fájdalomhoz kapcsolódó neuroinflammáció értékelésére. A perfúzióval fixált agyi és gerincvelői szövetekből 30 µm-es metszeteket készítettünk, majd GFAP (asztrociták) és Iba1 (mikroglia) elleni antitestekkel jelöltük a

sejteket. A festett minták kvantitatív elemzését Nikon mikroszkóppal és Neurolucida szoftverrel végeztük egy módosított, nociceptív pályákra optimalizált protokoll alapján.

### **CD3, CD31 és CD45 immunfestések**

Az emlőtumoros modellben a daganatszövet immunhisztokémiai elemzéséhez CD3, CD31 és CD45 antitesteket használtunk a T-sejtek, endotélsejtek és immunsejt-infiltráció vizsgálatára. A formalinban fixált, paraffinba ágyazott mintákon H&E festést és antigénfeltárást követően specifikus primer és peroxidáz-konjugált szekunder ellenanyagokat alkalmaztunk, a jelöléseket DAB kromogénnel tettük láthatóvá. A digitalizált metszeteket CaseViewer és HistoQuant szoftverrel értékeltük, az egyes markerek expresszióját pedig a maszkolt és annotált területek arányaként (rMA, %) határoztuk meg.

### **4.12. Statisztikai analízis**

A statisztikai elemzések során két csoport összehasonlításához független mintás t-próbát, négy csoport esetén kétutas ANOVA-t alkalmaztunk Bonferroni post hoc tesztel. A nociceptív vizsgálatokhoz ismételt méréses kétutas ANOVA-t használtunk, szintén Bonferroni korrekcióval. Az adatok normáleloszlását Shapiro–Wilk tesztel ellenőriztük, az eredményeket átlag  $\pm$  SEM formában ábráztuk, a  $p < 0,05$  értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük.

## **EREDMÉNYEK**

### **1. Egér OS modell karakterizálása nemi különbségek figyelembevételével**

Az egér oszteosarkóma modellben mindkét nemben szignifikáns mechanikai hiperalgéria, csökkent végtagterhelés és spontán fájdalomhoz köthető viselkedésformák (flinching, guarding) jelentkeztek, míg a kontrollcsoportban ilyen változások nem voltak megfigyelhetők. A tumoros végtagon a fájdalomérzékenység már a 10. naptól kimutatható volt, és a megfigyelési időszak végéig fennmaradt, ezzel párhuzamosan a tibia átmérője jelentősen, akár 70–90%-kal növekedett. Nemi különbség nem volt észlelhető sem a kiindulási értékekben, sem a fájdalmi vagy morfológiai válaszok mértékében. Az oszteosarkóma-indukált állatoknál szignifikáns mikrogliális aktiváció (Iba1-pozitív sejtsűrűség-növekedés) volt megfigyelhető az L4–L6 gerincevelői szakasz ipszilaterális hátsó szarvában a 14. napon, mindkét nemben. Ez az aktiváció a 28. napra normalizálódott, és az agyi területeken (PAG, SSC) egyik időpontban sem mutatkozott változás. Az asztrocita-aktiváció (GFAP-pozitivitás) viszont csak a 28. napon emelkedett szignifikánsan, jelezve az oszteosarkóma által kiváltott késői neuroinflammációt.

## **2. A kapszaicin-érzékeny neuronok szerepének komplex vizsgálata**

### **2. 1. A kapszaicin-érzékeny afferensek szerepe az OS-indukált fájdalom kialakulásában**

Oszteoszarkóma modellben a kapszaicin-érzékeny szenzoros rostok defunkcionalizálása (RTX-kezelés) nem befolyásolta sem a fájdalomparaméterek (mechanikai hiperalgészia, végtágterhelés, spontán fájdalomviselkedés), sem a daganat növekedésének mértékét. A fájdalomérzékenység és a daganat okozta viselkedési változások mind az RTX-kezelt, mind a kontrollcsoportban hasonlóan jelentkeztek. A daganat morfológiai jellemzői és a csontállomány szerkezete szintén változatlan maradt, így további szövettani vizsgálatokat nem végeztünk.

### **2.2. A kapszaicin-érzékeny afferensek deszenzitizálásának szerepe 4T1 sejtek indukálta emlőtumor modellben**

Korai fázisban gyorsabb tumorvolumen-növekedéssel járt, bár ez a különbség későbbi időpontokra eltűnt, és MR-alapú volumetriával nem vált statisztikailag szignifikánssá. Biolumineszcens képalkotás alapján a daganatsejtek életképessége nem különbözött a kezelt és kezeletlen csoportok között. A vaszkuláris permeabilitás azonban szignifikánsan magasabb volt az RTX-előkezelt állatokban, amit az AngioSense akkumulációja jelez. Ennek ellenére sem a daganaton belüli proteázaktivitás, sem a neuropeptid-koncentrációk (CGRP, SP, szomatosztatin), sem pedig az immunhisztokémiai markerek (CD3, CD31, CD45) expressziója nem mutatott szignifikáns eltérést a csoportok között. Összességében a kapszaicin-érzékeny idegvégződés kiiktatása enyhe, korai daganatnövekedést gyorsító és érszivárgást fokozó hatással járt.

### **2.3. A kapszaicin-érzékeny afferensek szerepe melanoma egérmodellben**

A B16 melanoma egérmodellben a kapszaicin-érzékeny érzőidegvégződés károsítása (RTX-kezelés) nem befolyásolta szignifikánsan sem a tumor növekedését, sem az érhálózat alakulását. A daganat térfogatának és súlyának alakulása a kezelési és kontrollcsoportban hasonló ütemet mutatott a teljes megfigyelési periódus alatt, mind manuális, mind MRI-alapú mérések szerint. A CD31-pozitív területek aránya az RTX-csoportban enyhén csökkent, de ez a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns. Eredményeink arra utalnak, hogy a kapszaicin-érzékeny rostok funkcióvesztése nem befolyásolja érdemben a melanoma növekedését vagy vaszkularizációját.

### **3. SSAO-gátló vegyület, az SzV-1287 potenciális daganatellenes hatásainak in vitro és in vivo vizsgálta**

#### **3.1. In vitro ATP - alapú életképesség vizsgálat K7M2, 4T1 és B16 sejttípusokon**

Az SzV-1287 kezelés koncentrációfüggő sejtvitalitás-csökkenést okozott mindhárom vizsgált tumorsejtvonalban, amely a lumineszcens ATP-szintézis csökkenésével volt mérhető. A hatás sejttípusonként eltérő érzékenységet mutatott: a B16 melanoma sejtek már alacsonyabb koncentrációkra is érzékenyen reagáltak, míg a 4T1 és K7M2 sejtek esetében magasabb dózisokra volt szükség a szignifikáns viabilitás csökkenéshez.

#### **3.2. Az SzV-1287 kezelés hatásainak vizsgálata oszteosarkóma modellben**

Az oszteosarkóma sejtek injektálása után már a 8. naptól tartós mechanikai hiperalgéria és fájdalomelkerülő viselkedés alakult ki. Az SzV-1287 kezelés nem eredményezett szignifikáns javulást sem a fájdalomküszöbértékekben, sem a végtagterhelésben vagy spontán fájdalmi viselkedésformákban a kontrollcsoporthoz képest és a daganat méretének alakulása sem mutatott különbséget a kezelési csoportok között.

#### **3.3. SzV-1287 vizsgálata egér 4T1 tripla negatív emlődaganat modellen**

Az SzV-1287 kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a tumor növekedését, a daganatsejtek életképességét vagy a daganat térfogatát, amely mindkét csoportban hasonló mértékű volt. A biolumineszcens képalkotás során mért jelintenzitás, valamint az FMT-alapú ProSense680 és AngioSense vizsgálatok sem mutattak eltérést az SzV-1287 és az oldószerrel kezelt csoportok között.

#### **3.4. SzV-1287 vizsgálata B16 melanoma modellben**

A 21 napos kísérlet során a B16 melanoma tumor fokozatos növekedést mutatott, azonban az SzV-1287 SSAO-gátló kezelés szignifikáns tumorvolumen-csökkenést eredményezett, különösen az 50 mg/kg dózis esetén. A daganat térfogata és tömege mind digitális mérés, mind MRI-alapú volumetria alapján jelentősen alacsonyabb volt az SzV-1287- és LJP-1207-kezelést követően. Az állatok általános állapotát a kezelések nem befolyásolták, ezt testsúlyváltozásokkal is igazoltuk.

## MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

Kísérleteink során elsőként vizsgáltuk komplex módon a kapszaicin-érzékeny érzőideg végződés és a szenzoros-vaskuláris-immun interakciókban szerepet játszó, általunk szabadalmaztatott, összetett hatásmechanizmusú SSAO-gátló SzV-1287 hatásait különböző vaszkularizáltságú és immunogenitású tumorok - oszteoszarkóma, emlő adenokarcinoma és melanoma – egérmodelljeiben. Az oszteoszarkóma (K7M2) modellben centrális szenzitizációra utaló gliaaktivációt, illetve tartós fájdalomviselkedést figyeltünk meg, azonban a kapszaicin-érzékeny idegvégződések deszenzitizálása nem befolyásolta sem a fájdalmat, sem a tumor növekedését, ami arra utal, hogy ebben a modellben nem ezek a rostok dominálják a daganat okozta fájdalomjelenségeket. A csontdaganat, különösen az oszteoszarkóma által kiváltott fájdalom kialakulása összetett folyamat, amelyben mind perifériás, mind centrális szenzitizációs mechanizmusok szerepet játszanak (59). A daganatsejtek gyulladásos mediátorokat szabadítanak fel, savas mikrokörnyezetet hozva létre, amely az érzőidegvégződések és a DRG neuronok érzékenyítését váltja ki. Emellett a gerincvelő hátsó szarvában és az agyi fájdalomfeldolgozó régiókban is aktiváció figyelhető meg, ami megmagyarázza, hogy a fokozott fájdalomérzékenység már a tumor látható növekedése előtt jelentkezhet (60). Vizsgálataink megerősítették, hogy az oszteoszarkóma okozta fájdalom kialakulásában és fennmaradásában a központi idegrendszeri gliaaktiváció – korai mikroglia- és késői asztroglia-reakció – kulcsszerepet játszik (61). Ezzel szemben a kapszaicin-érzékeny érzőidegvégződések deszenzitizálása nem befolyásolta a daganat növekedését vagy a fájdalomparamétereket, ami centrális szenzitizáció dominanciájára utal (62). Ezzel szemben a 4T1 ortotópiás emlődaganatmodellben az RTX-szel végzett denerváció a korai fázisban gyorsabb tumornövekedést és fokozott vaszkuláris permeabilitást eredményezett, noha hosszú távon nem módosította jelentősen a daganat méretét vagy immunhisztokémiai jellemzőit. A daganatszövet szerkezetében, neuropeptid-szintekben és gyulladásos markerekben nem mutatkozott szignifikáns eltérés, a kezdeti méretkülönbség valószínűleg a peritumorális ödéma miatt volt mérhető (63). A tumorméret eltérése, amit mechanikus tolómérővel és MRI-vel mértek, feltehetően annak tudható be, hogy az MRI csak a daganattérfogatot, míg a kalipperes mérés a peritumorális ödémát is figyelembe vette, utóbbi pedig gyakran kifejezett az agresszív emlődaganatokban (64). A kísérlet során megfigyelt korai tumor növekedés és fokozott érpermeabilitás a kapszaicin-érzékeny érzőideg végződések védő, szabályozó szerepére is utalhat (65). Eredményeink összhangban állnak korábbi vizsgálatokkal, ahol a kapszaicin fokozta a 4T1 daganat tüdő- és szívtájtételeinek kialakulását deszenzitizáló dózisban, míg

alacsonyabb, nem deszenzitizáló mennyiségben csökkentette a tüdőáttétek gyakoriságát (66). Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy a kapszaicin-érzékeny érzőidegek hatással vannak a tumor növekedésére és a vaszkuláris permeabilitásra a 4T1 ortotópiás emlődaganat modellben. A deszenzitizált egerek daganataiban megfigyelt fokozott érpermeabilitás valószínűleg a helyi neurogén érszabályozás zavarából ered, amely hozzájárulhat a daganatérhálózat szerkezetének meg bomlásához. Ugyanakkor az intratumorális proteáz expresszióban nem tapasztaltunk számottevő eltérést, és a daganatszövet neuropeptid-szintjei sem változtak. A szövettani elemzések alapján a hosszú távú daganatnövekedést, a sejtes összetételt és az életképességet nem befolyásolta jelentősen az érzőideg-végződések deszenzitizálása. Eredményeink, valamint a korábbi adatok alapján a kapszaicin-érzékeny afferensek és a szenzoros beidegzés a tumormikrokörnyezetben homeosztatis és tumorelles tulajdonságokat hordoznak. A B16 melanoma modellben ugyanakkor sem a kapszaicin-érzékeny afferensek deszenzitizálása, sem az SzV-1287 kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a tumor növekedését vagy érképződését, ami a daganat alacsony immunogenitására és gyors proliferációjára vezethető vissza. Mivel a B16 melanoma egy kevésbé immunogén, gyorsan növekvő daganat, elképzelhető, hogy kevésbé érzékeny az idegi szabályozás megváltoztatására, mint például az erősen immunmodulált 4T1 emlődaganat modell. További kutatások szükségesek annak feltérképezésére, hogy ezek az idegi mechanizmusok milyen mértékben játszanak szerepet különböző tumortípusok patofiziológiájában, illetve, hogy milyen módon befolyásolják a daganat-immunrendszer-érhálózat tengelyt (67). A szenzoros-vaszkuláris-immun interakciókban szerepet játszó, általunk szabadalmaztatott, összetett hatásmechanizmusú **SSAO-gátló SzV-1287** hatásait vizsgáltuk, először *in vitro* sejtenyészetben, illetve *in vivo* tumormodellekben. *In vitro* sejtvitalitási vizsgálatokban a B16 melanoma sejtek nagy érzékenységet mutattak, míg a 4T1 és K7M2 sejtek csak magasabb koncentrációkra reagáltak. Az **oszteoszarkóma-indukált fájdalommodellben** kapott eredmények alapján megállapítható, hogy az SzV-1287 kezelés nem fejtett ki mérhető hatást sem a daganat által kiváltott fájdalomviselkedési paraméterekre, sem pedig a tumor növekedési dinamikájára. a K7M2 modell agresszív csontképző jellege és a daganat által kiváltott komplex nociceptív válasz eltérhet a lágyszövetdaganatokétól, másrészt feltételezhető, hogy az SzV-1287 célmolekulái más módon expresszálódnak vagy aktiválódnak ebben a szöveti környezetben. További lehetséges magyarázatként felvethető, hogy a csonttumor által okozott fájdalom elsősorban nem a kapszaicin-érzékeny afferens rostokon keresztül közvetített, így a TRPA1/TRPV1 moduláció önmagában nem elegendő a tünetek enyhítésére. Több tanulmány kimutatta, hogy a VAP-1 expressziója összefüggésbe hozható különféle daganatokkal, beleértve a vastagbél, a gyomor

és a tüdő metasztázis elváltozásait(68,69). Kísérletünk során az ortotópikus **4T1 emlő adenokarcinóma egérmódel**ben is vizsgáltuk az SzV-1287 hatását a tumor proliferációjára és életképességére. az injektált 4T1 sejtek gyors osztódása következtében a tumor már a 9. napra jelentős térfogatnövekedést mutatott mind az oldószerrel, mind az SzV-1287-tel kezelt csoportban. Bár az SzV-1287 kezeléssel kisebb átlagos tumorvolumen tapasztaltunk, a különbség nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. Ezek az eredmények összhangban állnak korábbi irodalmi adatokkal, amelyek szerint a tumor mikrokörnyezetének komplexitása és a különböző daganatmodellek eltérő érzékenysége miatt a gyógyszerhatás modellenként jelentősen eltérhet. **B16 egér melanoma módel**ünkben elsőként bizonyítottuk az SzV-1287 tumor csökkentő hatását. Az eredmények alapján az SzV-1287 nagyobb dózisa (50 mg/kg) szignifikáns tumorvolumen-csökkenést eredményezett a kontrollcsoporthoz képest, amit mind digitális térfogatmérés, mind MRI-vizsgálat megerősített. A tumorelles hatás mechanizmusa részben az SSAO enzim gátlásán alapul, de az SzV-1287 esetében egyéb, pl. TRPV1/TRPA1 mediált vagy gyulladáscsökkentő hatások is szerepet játszhatnak. Több tanulmány bizonyította szerepét B16 melanoma egérmódelben, melyben anti-VAP-1 monoklonális antitesteket és kis molekulájú VAP-1 gátlókat alkalmaztak. A VAP-1 gátlók képesek voltak lassítani a melanómák és limfómák növekedését, valamint csökkenteni a tumor neoangiogenezisét is (70). A VAP-1/SSAO rendszer daganat-specifikus célpontként való azonosítása, valamint a kapszaicin-érzékeny afferensek szelektív modulációja lehetőséget kínál új terápiás stratégiák kialakítására. Eredményeink alapján a szenzoros beidegzés és az SSAO-gátlás szerepe erőteljesen függ a daganat típusától, immunogenitásától és mikrokörnyezetétől, így ezek célzott modulálása személyre szabott daganatellenes megközelítések alapját képezheti.

## ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

**I. A K7M2 oszteoszarkóma egérmódel** segítségével részletesen elemeztük a csontdaganat által kiváltott fájdalom kialakulását, amelynek során kimutattuk a **centrális szenzitizációt** (gerincvelői mikroglia- és asztroglia-aktivációval), miközben a **kapszaicin-érzékeny idegvégződések deszenzitizálása nem befolyásolta** sem a daganatnövekedést, sem a fájdalomparamétereket. **4T1 emlőkarcinóma módel**ben a deszenzitizálás **kezdetben gyorsabb tumorprogressziót és fokozott vaszkularizációt eredményezett**, felvetve, hogy a kapszaicin-érzékeny afferensek **védőszerepet** tölthetnek be a tumor mikrokörnyezetének szabályozásában. A kapszaicin érzékeny érzőidegvégződések kiirtása **nem befolyásolta** a melanoma növekedését vagy vaszkularizációját, ami a tumor alacsonyabb immunogenitásával és szenzoros idegi érzéketlenségével lehet összefüggésben.

**II.** A szenzoros-vaszkuláris-immun interakciókban szerepet játszó, általunk szabadalmaztatott, összetett hatásmechanizmusú **SSAO-gátló SzV-1287** hatásait vizsgáltuk *in vitro* és *in vivo* tumor modell rendszerekben. *In vitro*, az ATP-szintézis csökkenés minden tumor típusnál a sejtvitalitás mérséklődését tükrözte, kiváltképp **B16 melanoma** sejtvonalon, már viszonylag alacsony, 50  $\mu$ M koncentráció esetén is szignifikáns érzékenységet mutattak. Ez megerősíti a korábbi *in vivo* eredményeket is, ahol az SzV-1287 tumorvolumen-csökkenést eredményezett ebben a modellben. A **4T1 emlőkarcinóma** sejteknél csak 250  $\mu$ M felett tapasztaltunk szignifikáns életképesség-csökkenést. Ez az eredmény különösen fontos lehet a szenzoros ideg–tumor kölcsönhatásokat vizsgáló modellek szempontjából is, ahol az SzV-1287 hatásait részben nem tumorsejt-specifikus mechanizmusokon keresztül feltételezzük. Az *in vivo* kezelés itt sem vezetett szignifikáns tumorvolumen-csökkenéshez, de az eltérő immunogenitás és mikrokörnyezet érzékenysége indokolhatja az eltérő válaszreakciót. A **K7M2 osteoszarkóma** sejtvonal közepes érzékenységet mutatott az SzV-1287-re, amely 100  $\mu$ M feletti koncentrációk esetén már szignifikáns sejtvitalitás-csökkenést okozott. *In vivo* vizsgálataink során az SzV-1287 ebben a modellben sem fájdalomcsillapító, sem tumorelleses hatást nem mutatott. Vizsgálataink egy új perspektívából közelítik meg a tumor-mikrokörnyezet és annak idegi–vaszkuláris–immun komponenseinek meghatározását, új, ígéretes terápiás célpontok feltérképezése céljából.

## IRODALOMJEGYZÉK

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3).
2. Sarhadi VK, Daddali R, Seppänen-Kaijansinkko R. Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles in osteosarcoma pathogenesis and therapy. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences.* 2021.
3. Zhang J, Lu Y, Zhang N, Yu Z, Li H, He R, et al. Global burden of female breast cancer and its association with socioeconomic development status, 1990–2044. *Cancer Rep.* 2023;6(S1).
4. Zheng L, Chen J, Ma Z, Liu W, Yang F, Yang Z, et al. Capsaicin causes inactivation and degradation of the androgen receptor by inducing the restoration of miR-449a in prostate cancer. *Oncol Rep.* 2015;34(2).
5. Chen D, Yang Z, Wang Y, Zhu G, Wang X. Capsaicin induces cycle arrest by inhibiting cyclin-dependent-kinase in bladder carcinoma cells. *International Journal of Urology.* 2012;19(7).
6. Sánchez AM, Sánchez MG, Malagarie-Cazenave S, Olea N, Díaz-Laviada I. Induction of apoptosis in prostate tumor PC-3 cells and inhibition of xenograft prostate tumor growth by the vanilloid capsaicin. *Apoptosis.* 2006;11(1).
7. Michielon E, de Gruijl TD, Gibbs S. From simplicity to complexity in current melanoma models. Vol. 31, *Experimental Dermatology.* 2022.
8. Forster-Horváth C, Döme B, Paku S, Ladányi A, Somlai B, Jalkanen S, et al. Loss of vascular adhesion protein-1 expression in intratumoral microvessels of human skin melanoma. *Melanoma Res.* 2004;14(2).

9. Mohseny AB, Hogendoorn PCW, Cleton-Jansen AM. Osteosarcoma models: From cell lines to zebrafish. Vol. 2012, Sarcoma. 2012.
10. Lind M, Eriksen EF, B nger C. Bone morphogenetic protein-2 but not bone morphogenetic protein-4 and -6 stimulates chemotactic migration of human osteoblasts, human marrow osteoblasts, and U2-OS cells. *Bone*. 1996;18(1).
11. Yang L, Yong L, Zhu X, Feng Y, Fu Y, Kong D, et al. Disease progression model of 4T1 metastatic breast cancer. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2020;47(1).
12. Tao K, Fang M, Alroy J, Gary GG. Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer. *BMC Cancer*. 2008;8.
13. Gao ZG, Tian L, Hu J, Park IS, Bae YH. Prevention of metastasis in a 4T1 murine breast cancer model by doxorubicin carried by folate conjugated pH sensitive polymeric micelles. *Journal of Controlled Release*. 2011;152(1).
14. Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 Breast Tumor Model. *Curr Protoc Immunol*. 2000;39(1).
15. Sahai E, Astsaturon I, Cukierman E, DeNardo DG, Egeblad M, Evans RM, et al. A framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts. Vol. 20, *Nature Reviews Cancer*. 2020.
16. Ghosh S, Spagnoli GC, Martin I, Ploegert S, Demougin P, Heberer M, et al. Three-dimensional culture of melanoma cells profoundly affects gene expression profile: A high density oligonucleotide array study. *J Cell Physiol*. 2005;204(2).
17. Shigetomi E, Tong X, Kwan KY, Corey DP, Khakh BS. TRPA1 channels regulate astrocyte resting calcium and inhibitory synapse efficacy through GAT-3. *Nat Neurosci*. 2012;15(1).
18. Kark T, Bagi Z, Lizanecz E, P sztor ET, Erdei N, Czikora  , et al. Tissue-specific regulation of microvascular diameter: Opposite functional roles of neuronal and smooth muscle located vanilloid receptor-1. *Mol Pharmacol*. 2008;73(5).
19. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. 1997;389(6653).
20. Pang Z, Sakamoto T, Tiwari V, Kim YS, Yang F, Dong X, et al. Selective keratinocyte stimulation is sufficient to evoke nociception in mice. *Pain*. 2015;156(4).
21. Barbero R, Vercelli C, Cuniberti B, della Valle MF, Martano M, Re G. Expression of functional TRPV1 receptor in primary culture of canine keratinocytes. *J Vet Pharmacol Ther*. 2018;41(6).
22. Van Den Wijngaard RM, Klooker TK, Welting O, Stanisor OI, Wouters MM, Van Der Coelen D, et al. Essential role for TRPV1 in stress-induced (mast cell-dependent) colonic hypersensitivity in maternally separated rats. *Neurogastroenterology and Motility*. 2009;21(10).
23. Bertin S, De Jong PR, Jefferies WA, Raz E. Novel immune function for the TRPV1 channel in T lymphocytes. Vol. 8, *Channels*. 2014.
24. Fukushima K, Aoi Y, Kato S, Takeuchi K. Gastro-protective action of lafutidine mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons without interaction with TRPV1 and involvement of endogenous prostaglandins. *World J Gastroenterol*. 2006;12(18).
25. Jancs  N, Jancs -G bor A, Szolcs nyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemother*. 1967;31(1).
26. Szallasi A, Blumberg PM. Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. Vol. 51, *Pharmacological Reviews*. 1999.
27. Shin J, Cho H, Hwang SW, Jung J, Shin CY, Lee SY, et al. Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(15).

28. Winter Z, Buhala A, Ötvös F, Jósavay K, Vizler C, Dombi G, et al. Functionally important amino acid residues in the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) ion channel - an overview of the current mutational data. Vol. 9, *Molecular Pain*. 2013.
29. Gunthorpe MJ, Rami HK, Jerman JC, Smart D, Gill CH, Soffin EM, et al. Identification and characterisation of SB-366791, a potent and selective vanilloid receptor (VR1/TRPV1) antagonist. *Neuropharmacology*. 2004;46(1).
30. Gavva NR, Treanor JJS, Garami A, Fang L, Surapaneni S, Akrami A, et al. Pharmacological blockade of the vanilloid receptor TRPV1 elicits marked hyperthermia in humans. *Pain*. 2008;136(1–2).
31. Kelly S, Chapman RJ, Woodhams S, Sagar DR, Turner J, Burston JJ, et al. Increased function of pronociceptive TRPV1 at the level of the joint in a rat model of osteoarthritis pain. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(1).
32. Yao K, Dou B, Zhang Y, Chen Z, Li Y, Fan Z, et al. Inflammation—the role of TRPA1 channel. Vol. 14, *Frontiers in Physiology*. 2023.
33. Trevisani M, Siemens J, Materazzi S, Bautista DM, Nassini R, Campi B, et al. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(33).
34. Miyamoto T, Dublin AE, Petrus MJ, Patapoutian A. TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One*. 2009;4(10).
35. Bahia PK, Parks TA, Stanford KR, Mitchell DA, Varma S, Stevens SM, et al. The exceptionally high reactivity of Cys 621 is critical for electrophilic activation of the sensory nerve ion channel TRPA1. *Journal of General Physiology*. 2016;147(6).
36. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, Siemens J, Deranian KL, Zhao M, et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(33).
37. Sawada Y, Hosokawa H, Hori A, Matsumura K, Kobayashi S. Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels. *Brain Res*. 2007;1160(1).
38. Eid SR, Crown ED, Moore EL, Liang HA, Choong KC, Dima S, et al. HC-030031, a TRPA1 selective antagonist, attenuates inflammatory- and neuropathy-induced mechanical hypersensitivity. *Mol Pain*. 2008;4.
39. Payrits M, Ságghy, Mátyus P, Czompa A, Ludmerczki R, Deme R, et al. A novel 3-(4,5-diphenyl-1,3-oxazol-2-yl)propanal oxime compound is a potent Transient Receptor Potential Ankyrin 1 and Vanilloid 1 (TRPA1 and V1) receptor antagonist. *Neuroscience*. 2016 Jun 2;324:151–62.
40. Helyes Z, Thán M, Oroszi G, Pintér E, Németh J, Kéri G, et al. Anti-nociceptive effect induced by somatostatin released from sensory nerve terminals and by synthetic somatostatin analogues in the rat. *Neurosci Lett*. 2000;278(3).
41. Borbély É, Botz B, Bölskei K, Kenyér T, Kereskai L, Kiss T, et al. Capsaicin-sensitive sensory nerves exert complex regulatory functions in the serum-transfer mouse model of autoimmune arthritis. *Brain Behav Immun*. 2015;45.
42. Akimov MG, Gretskaya NM, Gorbacheva EI, Khadour N, Chernavskaya VS, Sherstyanykh GD, et al. The Interaction of the Endocannabinoid Anandamide and Paracannabinoid Lysophosphatidylinositol during Cell Death Induction in Human Breast Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2024;25(4).
43. Sterle I, Zupančič D, Romih R. Correlation between urothelial differentiation and sensory proteins P2X3, P2X5, TRPV1, and TRPV4 in normal urothelium and papillary carcinoma of human bladder. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
44. Amantini C, Mosca M, Nabissi M, Lucciarini R, Caprodossi S, Arcella A, et al. Capsaicin-induced apoptosis of glioma cells is mediated by TRPV1 vanilloid receptor and requires p38 MAPK activation. *J Neurochem*. 2007;102(3).

45. Ghilardi JR, Röhrich H, Lindsay TH, Sevcik MA, Schwei MJ, Kubota K, et al. Selective blockade of the capsaicin receptor TRPV1 attenuates bone cancer pain. *Journal of Neuroscience*. 2005;25(12).
46. Hudhud L, Rozmer K, Kecskés A, Pohóczky K, Bencze N, Buzás K, et al. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Ion Channel Is Expressed in Osteosarcoma and Its Activation Reduces Viability. *Int J Mol Sci*. 2024 Apr 1;25(7).
47. Yan L, Sun C, Zhang Y, Zhang P, Chen Y, Deng Y, et al. The Biological Implication of Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase (SSAO) Upregulation in Rat Systemic Inflammatory Response under Simulated Aerospace Environment. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4).
48. Matyus P, Dajka-Halasz B, Foldi A, Haider N, Barlocco D, Magyar K. Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase: Current Status and Perspectives. *Curr Med Chem*. 2012;11(10).
49. Foot JS, Deodhar M, Turner CI, Yin P, Van Dam EM, Silva DG, et al. The discovery and development of selective 3-fluoro-4-aryloxyallylamine inhibitors of the amine oxidase activity of semicarbazide-sensitive amine oxidase/vascular adhesion protein-1 (SSAO/VAP-1). *Bioorg Med Chem Lett*. 2012;22(12).
50. Wang EY, Gao H, Salter-Cid L, Zhang J, Huang L, Podar EM, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) inhibitors with anti-inflammatory activity. *J Med Chem*. 2006;49(7).
51. Chai CLL, Mátyus P. One size does not fit all: Challenging some dogmas and taboos in drug discovery. Vol. 8, *Future Medicinal Chemistry*. 2016.
52. Helyes Z, Horvath AH, Szentes N, Tekus V, Pal S, Kálai T, et al. Preclinical and Phase I Clinical Development of a Novel Multi-target Drug Candidate for Neuropathic Pain. In 2023.
53. Horváth ÁI, Bölcskei K, Szentes N, Borbély É, Tékus V, Botz B, et al. Novel multitarget analgesic candidate SZV-1287 demonstrates potential disease-modifying effects in the monoiodoacetate-induced osteoarthritis mouse model. *Front Pharmacol*. 2024;15.
54. Horváth Á, Tékus V, Bencze N, Szentes N, Scheich B, Bölcskei K, et al. Analgesic effects of the novel semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitor SZV 1287 in mouse pain models with neuropathic mechanisms: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 and ankyrin 1 receptors. *Pharmacol Res*. 2018;131.
55. Zhang GL, Zhang Y, Cao KX, Wang XM. Orthotopic injection of breast cancer cells into the mice mammary fat pad. *Journal of Visualized Experiments*. 2019;2019(143).
56. Tábi T, Szőke É, Mérey A, Tóth V, Mátyus P, Gyires K. Study on SSAO enzyme activity and anti-inflammatory effect of SSAO inhibitors in animal model of inflammation. *J Neural Transm*. 2013;120(6).
57. Horváth Á, Menghis A, Botz B, Borbély É, Kemény Á, Tékus V, et al. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of the Novel Semicarbazide-Sensitive Amine-Oxidase Inhibitor SzV-1287 in Chronic Arthritis Models of the Mouse. *Sci Rep*. 2017;7.
58. Tékus V, Horváth ÁI, Csekő K, Szabadfi K, Kovács-Valasek A, Dányádi B, et al. Protective effects of the novel amine-oxidase inhibitor multi-target drug SZV 1287 on streptozotocin-induced beta cell damage and diabetic complications in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;134.
59. Zheng XQ, Wu Y hao, Huang J feng, Wu AM. Neurophysiological mechanisms of cancer-induced bone pain. Vol. 35, *Journal of Advanced Research*. 2022.
60. Bennett GJ. What is spontaneous pain and who has it? *Journal of Pain*. 2012;13(10).
61. Scholz J, Woolf CJ. The neuropathic pain triad: Neurons, immune cells and glia. Vol. 10, *Nature Neuroscience*. 2007.
62. Bencze N, Scheich B, Szőke É, Wilhelm I, Körmöndi S, Botz B, et al. Osteosarcoma-Induced Pain Is Mediated by Glial Cell Activation in the Spinal Dorsal Horn, but Not Capsaicin-Sensitive Nociceptive Neurons: A Complex Functional and Morphological Characterization in Mice. *Cancers (Basel)*. 2024 May 1;16(10).

63. Bencze N, Schvarcz C, Kriszta G, Danics L, Szőke E, Balogh P, et al. Desensitization of Capsaicin-Sensitive Afferents Accelerates Early Tumor Growth via Increased Vascular Leakage in a Murine Model of Triple Negative Breast Cancer. *Front Oncol.* 2021;11.
64. Panzironi G, Moffa G, Galati F, Marzocca F, Rizzo V, Pediconi F. Peritumoral edema as a biomarker of the aggressiveness of breast cancer: results of a retrospective study on a 3 T scanner. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;181(1).
65. Ziche M, Morbidelli L, Masini E, Amerini S, Granger HJ, Maggi CA, et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P. *Journal of Clinical Investigation.* 1994;94(5).
66. Erin N. Role of sensory neurons, neuroimmune pathways, and transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in a murine model of breast cancer metastasis. Vol. 69, *Cancer Immunology, Immunotherapy.* 2020.
67. Hutchenreuther J, Vincent K, Norley C, Racanelli M, Gruber SB, Johnson TM, et al. Activation of cancer-associated fibroblasts is required for tumor neovascularization in a murine model of melanoma. *Matrix Biology.* 2018 Dec 1;74:52–61.
68. Varis A, Wolf M, Monni O, Vakkari ML, Kokkola A, Moskaluk C, et al. Targets of gene amplification and overexpression at 17q in gastric cancer. *Cancer Res.* 2002;62(9).
69. Ward ST, Weston CJ, Shepherd EL, Hejmadi R, Ismail T, Adams DH. Evaluation of serum and tissue levels of VAP-1 in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2016;16(1).
70. Marttila-Ichihara F, Auvinen K, Elimä K, Jalkanen S, Salmi M. Vascular adhesion protein-1 enhances tumor growth by supporting recruitment of Gr-1+CD11b+ myeloid cells into tumors. *Cancer Res.* 2009;69(19).

## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ PUBLIKÁCIÓK

**Bencze N**, Scheich B, Szőke É, Wilhelm I, Körmöndi S, Botz B, Helyes Z. Osteosarcoma-Induced Pain Is Mediated by Glial Cell Activation in the Spinal Dorsal Horn, but Not Capsaicin-Sensitive Nociceptive Neurons: A Complex Functional and Morphological Characterization in Mice (2024). *Cancers*. doi: 10.3390/cancers16101788.

**IF: 4,5**

**Bencze N**, Schvarcz, Cs\*, Kriszta G, Danics L, Szőke Éva, Balogh Péter, Szállási Á, Hamar P, Helyes Zs, Botz B. (2021). Desensitization of Capsaicin-Sensitive Afferents Accelerates Early Tumor Growth via Increased Vascular Leakage in a Murine Model of Triple Negative Breast Cancer. *Front Oncology*. doi: 10.3389/fonc.2021.685297. \* megosztott elsőszerező

**IF: 3,5**

## EGYÉB EREDETI PUBLIKÁCIÓK

Hudhud L, Rozmer K, Kecskés A, Pohóczky K, **Bencze N**, Buzás K, Szőke É, Helyes Z. (2024) Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Ion Channel Is Expressed in Osteosarcoma and Its Activation Reduces Viability. *Int J Mol Sci*. doi: 10.3390/ijms25073760. **IF: 4,9**

Fülöp B, Hunyady Á, **Bencze N**, Kormos V, Szentes N, Dénes Á, Lénárt N, Borbély É, Helyes Z. (2023) IL-1 Mediates Chronic Stress-Induced Hyperalgesia Accompanied by Microglia and Astroglia Morphological Changes in Pain-Related Brain Regions in Mice. *Int J Mol Sci*. doi: 10.3390/ijms24065479. **IF: 4,9**

Deres L, Eros K, Horvath O, **Bencze N**, Cseko C, Farkas S, Habon T, Toth K, Halmosi R. (2019). The Effects of Bradykinin B1 Receptor Antagonism on the Myocardial and Vascular Consequences of Hypertension in SHR Rats. *Front Physiology*. doi: 10.3389/fphys.2019.00624. **IF: 2,067**

Ádám Horváth, Valéria Tékus, **Noémi Bencze**, Nikolett Szentes, Bálint Scheich, Kata Bölcseki, Éva Szőke, Attila Mócsai, Éva Tóth-Sarudy, Péter Mátyus, Erika Pintér, Zsuzsanna Helyes (2018). Analgesic effects of the novel semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitor SZV 1287 in mouse pain models with neuropathic mechanisms: Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 and ankyrin 1 receptors. *Pharmacological Research*. doi: 10.1016/j.phrs.2018.02.006. **IF:5,574**

Kovács A, László K, Gálosi R, Ollmann T, Péczely L, Zagoracz O, **Bencze N**, Lénárd L. (2014). Intraamygdaloid microinjection of RFamide-related peptide-3 decreases food intake in rats. *Brain Res Bull*. doi: 10.1016/j.brainresbull.2014.07.002. **IF: 2, 718**

Hudhud L, Szőke É, **Bencze N**, Pohóczky K, Helyes Zs (2024). Transient Receptor Potential (TRP) channels in cancer: Implications for drug discovery and development. In: Szallasi A (ed.) *TRP Channels as Therapeutic Targets* (Second Edition). Academic Press, Chapter 23, pp. 387–401. ISBN: 9780443186530. doi: [10.1016/B978-0-443-18653-0.00003-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18653-0.00003-4)

## KONGRESSZUSI POSZTER PREZENTÁCIÓK

**Noémi Bencze**, Bálint Scheich, András Adámy, Nikolett Szentes, Éva Borbély, Éva Szőke, Imola Wilhelm, Zsuzsanna Helyes: Complex examination of cancer pain and glial cells in the

brain in osteosarcoma murine model. V. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2016. május 27- 29.

**Bencze Noémi**, Scheich Bálint, Adámy András, Szentes Nikolett, Borbély Éva, Szőke Éva, Wilhelm Imola, Helyes Zsuzsanna.: Tumoros fájdalom és agyi mikroglia-aktiváció komplex vizsgálata egér oszteosarkóma modellben. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ 2016 június1-4).

**Bencze N.**, Horváth Á., Tékus V., Szentes N., Scheich B., Bölcskei K., Szőke É., Mócsai A.,Tóth SarudyÉ., Mátyus P., Pintér E., Helyes Zs.: A SZEMIKARBAZID-SZENZITÍV AMINOXIDÁZ GÁTLÓ, SZV -1287 szerepe a mikroglia aktivációban, krónikus ízületi gyulladás egérmodelljében. Magyar Kísérleti és Klinikai Farmakológiai Társaság Gyógyszer Innovációs Kongresszusa, 2017 május 7-9.

**Noémi Bencze**, Bálint Scheich, András Adámy, Nikolett Szentes, Éva Borbély, Éva Szőke, Imola Wilhelm, Zsuzsanna Helyes. Microglia activation in the spinal dorsal horn in a mouse model of bone cancer pain. Regional FENS Meeting in Pécs, 20-23 September, 2017.

**Noémi Bencze**, Bálint Scheich, Éva Szőke, Tamás Kiss, Wilhelm Imola, Krisztina Buzás, Bálint Botz, Zsuzsanna Helyes. Osteosarcoma-induced bone pain is mediated by microglia activation, but not capsaicin-sensitive nociceptive neurons: a complex functional and morphological characterization in mice In: International Neuroscience Conference, Pécs 2024: 302 p. p. 84

**Noémi Bencze**, Andrea Nehr-Majoros, Lina Hudhud, Lajos Karakai, Péter Mátyus, Éva Szőke, Zsuzsanna Helyes. The novel multitarget semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitor SzV-1287 decreases the viability of different cancer cell lines. In: Conference on Pharmacology, Pharmacokinetics & Innovation (HUPHAR 2024) 217 p. pp. 202-203. , 2 p.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának, aki az elmúlt évek során szakmai odaadásával és tanácsaival segítette a munkámat. Hálával tartozom Prof. Dr. Pintér Erikának a Gyógyszertudományok Doktori Iskola, valamint a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet vezetőjének munkám támogatásáért, valamint, Dr. Szőke Évának, aki szakmai tudásával, és baráti tanácsival is támogatta PhD tanulmányaimat.

Köszönetemet szeretném kifejezni kollégáimnak, Dr. Payrits Majának, Dr. Csekő Katának, Dr. Aczél Tímeának, Dr. Pohóczky Krisztinának, hogy mindig számíthattam szakmai, és baráti tanácsaikra a mindennapokban.

Illetve szeretném megköszönni a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben dolgozó minden kollégámnak, hogy a kutatómunkámat egy szakmailag és emberileg is kiváló közösségben végezhettem. Köszönetet szeretnék mondani Ömböli Dórának, aki asszisztensi munkájával nagyban hozzájárult a kísérletek sikerességéhez.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak, Szüleimnek és Férjemnek támogatásukat, bátorításukat és szeretetüket, mellyel munkámat is segítették.