

A Tranziens Receptor Potenciál ioncsatorna aktivációt gátló mechanizmusok a lipid raftokon keresztül

Doktori (PhD) tézis



Nehr-Majoros Andrea Kinga

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Pintér Erika

Neuroimmun interakciók szerepe fájdalomban és gyulladásban Program

Programvezető: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Témavezető: Dr. Szőke Éva

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs

2026.

1. Kutatási koncepció

A neuropátiás fájdalom terápiája máig komoly kihívást jelent. A jelenleg alkalmazott gyógyszerek - opioidok, nem-szteroid gyulladáscsökkentők (non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) és különféle adjuváns analgetikumok - számos betegcsoport és fájdalomállapot esetében nem biztosítanak megfelelő hatékonyságot, jelentős finánciális és pszichoszociális terhet róva ezzel társadalmunkra. Az elmúlt évtizedekben a Tranziens Receptor Potenciál (TRP) ioncsatorna család több tagja -, köztük a Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) és Ankyrin 1 (TRPA1) - azonosításra került, mint ígéretes gyógyszer-célpont, és intenzív kutatás indult antagonisták fejlesztésére. Bár ezek a vegyületek preklinikai modellekben hatékonyak bizonyultak, a klinikai vizsgálatok során súlyos mellékhatások - például hipertermia és a hőérzékelés zavara - miatt nem kerültek forgalomba. Ez a helyzet rávilágít arra, hogy a fájdalomcsillapításban új, alternatív megközelítésekre van szükség, amelyek eltérnek a klasszikus receptorblokkoló stratégiától.

Az egyik ígéretes irány a plazmamembrán lipid raft mikrodoménjeinek célzott modulációja. Ezek a koleszterin-, szfingolipid- és gangliozid-gazdag, rendezett régiók platformként szolgálnak a fájdalomérzetben kulcsszerepet játszó fehérjék (pl. TRPV1, TRPA1) komplexálódásához és aktivációjához. A membrán lipidek és az ioncsatornák közötti hidrofób kölcsönhatások megbontása lehetőséget ad a nociceptív jelátvitel több ponton történő perifériás gátlására.

E megközelítés egyik eszköze a ciklodextrinek (CD-k) topikális alkalmazása, amelyek a koleszterin komplexálásával és membránból való eltávolításával megbontják a raftok szerkezetét, mérsékelve a TRP ioncsatornák aktivációját és a neurogén gyulladást.

Kutatási koncepciónk lényege tehát a membrán mikrokörnyezet célzott módosítása, amely új lehetőséget kínál perifériásan ható analgetikumok fejlesztésére, a hőérzékelés megőrzése és a központi mellékhatások minimalizálása mellett. Ez a stratégia nemcsak a TRP ioncsatornák, hanem más raft-asszociált receptorok funkcióját is befolyásolhatja, így szélesebb hatásspektrumú, innovatív fájdalomcsillapító megoldásokhoz vezethet.

2. Bevezetés

2.1. A fájdalom élettana, alapfogalmak

A fájdalom a Nemzetközi Fájdalomkutató Társaság (IASP) meghatározása szerint kellemetlen szenzoros és emocionális élmény, amely tényleges vagy potenciális szövetkárosodással függ össze, illetve ahhoz hasonló élménnyel írható le (1). A modern fájdalomkutatás hangsúlyozza, hogy a fájdalom nem pusztán perifériás ingerület következménye, hanem komplex, többszintű neurobiológiai folyamat, amelyet kognitív, emocionális és szociális tényezők is modulálnak (2, 3).

A fájdalom kialakulásában nociceptív, gyulladásos és neuropátiás mechanizmusok egyaránt részt vehetnek. A nociceptív ingerek mechanikai, termális vagy kémiai eredetűek lehetnek, melyeket a szövetkárosító hatások érzékelésére specializálódott nociceptorok detektálnak (4). A nociceptív afferensek a vékonyan mielinizált A δ -rostokra és a mielinmentes C-rostokra oszthatók, amelyek eltérő vezetési sebességgel és fájdalomélménnyel járó jelátvitelt közvetítenek (G. I. Lee & Neumeister, 2020). A primer afferens neuronok sejttestjei a hátsó gyöki és egyes agyidegi ganglionokban helyezkednek el, centrális nyúlványaik pedig a gerincvelő dorzális szarvába vetülnek, ahol a nociceptív információ áttevődik a felszálló fájdalom pályákra. A spinotalamikus rendszer a nociceptív jeleket a talamuszon keresztül a kérgi és szubkortikális struktúrák felé továbbítja, biztosítva a fájdalom tudatos feldolgozását (5, 6).

A fájdalomfeldolgozás klasszikusan négy fázisra osztható: transzdukció, transzmisszió, percepció és moduláció, amely utóbbit a gerincvelői hálózatok és a leszálló gátló pályák szabályozzák (3, 7). E folyamatok zavara különböző klinikai jelenségekhez vezethet, mint a hiperalgéria, az allodínia vagy az analgéria (8).

A krónikus fájdalom önálló patológiává válhat, amelyben a fájdalom a kiváltó inger megszűnése után is fennmarad. Hátterében elsősorban perifériás és centrális szenzitizáció, valamint neuroimmun interakciók állnak, kiegészülve neuropátiás állapotokban kóros ektópiás idegi aktivitással (5, 9). A krónikus fájdalom típusai – gyulladásos, neuropátiás és nociplastikus – eltérő patofiziológiai mechanizmusokon alapulnak, azonban közös jellemzőjük a nociceptív rendszer tartós áthangolódása (10, 11). E komplex háttér magyarázza a krónikus fájdalom önfenntartó jellegét és indokolja az összetett, mechanizmus-alapú terápiás megközelítések szükségességét.

2.2. Lehetséges célpontok és megoldatlan területek a fájdalomcsillapításban

A fájdalomcsillapítás terápiás eszköztára jelentősen fejlődött, ennek ellenére a krónikus fájdalom kezelése továbbra is komoly kihívást jelent. A jelenleg alkalmazott gyógyszerek – opioidok, NSAID-ok, antidepresszánsok és gabapentinoidok – jellemzően egy-egy molekuláris célponton hatnak, és

elsősorban a nociceptív transzdukció, a központi neurotranszmisszió vagy a leszálló fájdalommoduláció szintjén fejtik ki hatásukat. Ezek a megközelítések krónikus, neuropátiás, nociplastikus vagy kevert eredetű fájdalmakban gyakran csak korlátozott hatékonyságúak, mivel a fájdalom fenntartása komplex, többszintű patofiziológiai folyamatokon alapul (12).

Az NSAID-ok továbbra is első vonalbeli szerek akut és gyulladásos fájdalomban, hosszú távú alkalmazásukat azonban jelentős mellékhatások korlátozzák (13). A perifériás nociceptorokon expresszáldó ioncsatornák célzott modulációja ígéretes terápiás irányt jelent, de eddig nem eredményezett széles körben alkalmazható klinikai készítményeket. A központi idegrendszerben ható opioidok erős analgéziát biztosítanak, ugyanakkor tolerancia, függőség és súlyos mellékhatások kialakulása miatt krónikus fájdalomban hosszú távon nem fenntartható megoldások (14). A nem-opioid centrális hatású szerek egyes krónikus fájdalomtípusokban alkalmazhatók, de hatékonyságuk gyakran részleges, mellékhatásaik pedig limitálják hosszú távú használatukat (5, 11).

A modern fájdalomkutatás egyik kulcsfelismerése, hogy a krónikus fájdalom fenntartásában meghatározó szerepet játszanak a neuroimmun mechanizmusok. A mikroglia- és asztrocitaaktiváció, valamint az ezekhez társuló gyulladásos jelátviteli utak hozzájárulnak a centrális szenzitizáció kialakulásához, új terápiás célpontokat kijelölve a mechanizmus-alapú fájdalomcsillapítás számára (3). Ezzel párhuzamosan a gén- és sejterápiás megközelítések, valamint a célzott gyógyszerbevitelre alkalmas nanotechnológiai megoldások hosszabb távú, precízebb intervenciós lehetőségeket vetnek fel (15–17).

Összességében a jelenlegi terápiák korlátai azt jelzik, hogy a krónikus fájdalom kezelése továbbra sem tekinthető megoldottnak. A komplex neurobiológiai háttér miatt egyetlen molekuláris célpont modulációja ritkán elegendő, így a jövőbeni stratégiák fókuszában a multimodális, több mechanizmust egyszerre célzó megközelítések és új, nem klasszikus támadáspontok azonosítása állhat.

2.3. A kapszaicin (CAPS) kutatás története és jelentősége

A CAPS (8-metil-N-vanillil-6-nonénamid), a *Capsicum* fajok csípősségéért felelős hatóanyaga, a fájdalomélettani kutatások egyik meghatározó molekulája. Bár a vegyület már a 19. század óta ismert, neurofarmakológiai jelentősége csak a 20. század második felében vált egyértelművé, amikor kiderült, hogy szelektíven aktiválja a nociceptív C-rostok egy részét, ezáltal kiváló eszközt biztosítva a primer szenzoros neuronok vizsgálatához. A CAPS kutatás alapjait magyar kutatók fektették le. Hőgyes Endre írta le először a vegyület érzőidegekre gyakorolt hatását (18), majd Jancsó Gábor igazolta, hogy a CAPS nem csupán irritáló anyag, hanem szelektív módon képes deszenzitizálni a nociceptív afferenseket, tartós fájdalomcsillapító hatást eredményezve (19). A további vizsgálatok során kimutatták, hogy a CAPS-érzékeny nociceptorok aktivációja neurogén gyulladásos válaszokat – vazodilatációt és plazma extravazációt – vált ki, amelyek deszenzitizációval vagy denervációval gátolhatók (20, 21). Ezek az

eredmények vezettek egy specifikus CAPS-receptor létezésének hipotéziséhez. A későbbi molekuláris és farmakológiai kutatások során azonosították a CAPS és az ultrapotens analóg reziniferatoxin (RTX) kötőhelyeit (22, 23), majd az első antagonista, a kapszazepin alkalmazása lehetővé tette a receptor funkcionális vizsgálatát (24). A receptor klónozását követően a fehérjét a tranziens receptor potenciál (TRP) csatornacsalád vanilloid alcsaládjába sorolták, TRPV1 néven (25).

2.4. A TRP ioncsatornák

A tranziens receptor potenciál (TRP) ioncsatornák széles körben expresszálódnak különböző szövetekben, és fizikai (pl. hő- és mechanikai ingerek), valamint endogén és exogén kémiai stimulusok hatására aktiválódva nem-szelektív kationbeáramlást közvetítenek. Szekvencia- és szerkezeti hasonlóságaik alapján hat fő alcsaládba sorolhatók, amelyek közül emlősökben összesen 28 TRP ioncsatorna ismert, és ezek közül tíz mutat kifejezett hőmérséklet-érzékenységet (26, 27). A TRP ioncsatornák közös szerkezeti sajátossága a hat transzmembrán domén (S1–S6), valamint a tetramer felépítés, amely lehetővé teszi különböző ingerek integrálását és polimodális működést (28). A nociceptív jelátvitel szempontjából kiemelt jelentőségűek a hőérzékeny TRP ioncsatornák, különösen a TRPV1, TRPA1, TRPM3 és TRPM8, amelyek elsődleges érzőneuronokon és perifériás idegvégződéseken expresszálódnak, és kulcsszerepet játszanak a károsító ingerek detektálásában (29, 30). E csatornák közül a TRPV1 és a TRPA1 gyakran koexpresszálódnak, és együtt vesznek részt a fájdalmas és gyulladásos ingerek érzékelésében (31, 32).

A TRPV1 ioncsatorna aktiválódik fájdalmas hőingerre ($>43\text{ }^{\circ}\text{C}$), savas környezetben, valamint számos exogén és endogén vanilloid ligand hatására (pl. CAPS, RTX). Aktivációját és érzékenységét különböző gyulladásos mediátorok tovább fokozzák, így fontos szerepet játszik a perifériás szenzitizáció és a gyulladásos fájdalom kialakításában (33–35). A TRPV1 működését a membránlipidekhez és intracelluláris szabályozó fehérjékhez kötődő mechanizmusok finomhangolják, lehetővé téve a nociceptív jelátvitel dinamikus szabályozását (36).

A TRPA1 elsősorban fájdalmas hidegingerekre ($<17\text{ }^{\circ}\text{C}$), mechanikai hatásokra, valamint irritatív és elektrofil kémiai anyagokra aktiválódik. Egyedi szerkezeti sajátossága a nagyszámú N-terminális ankirin ismétlődés, amely lehetővé teszi a kovalens agonisták általi aktivációt. Emiatt a TRPA1 különösen alkalmas az oxidatív stressz és a gyulladás során keletkező endogén károsító mediátorok érzékelésére (37–39).

Mindkét csatorna aktivációja Ca^{2+} - és Na^{+} -beáramlást indukál, ami a nociceptív neuronok depolarizációjához, neuropeptid-felszabaduláshoz és a fájdalomjel továbbításához vezet. A TRPV1 és TRPA1 együttes aktivációja különösen gyulladásos környezetben jár fokozott fájdalomérzettel, hozzájárulva a perifériás és centrális szenzitizációhoz (40, 41). E tulajdonságaik alapján a TRPV1 és

TRPA1 nemcsak alapvető nociceptív szenzorok, hanem ígéretes terápiás célpontok is új fájdalomcsillapító stratégiák fejlesztésében.

2.5. A CAPS-érzékeny érzőideg-végződés működése

A TRPV1-et és TRPA1-et expresszáló CAPS-érzékeny nociceptív rostok a fájdalomérzékelésben és jelátvitelben három funkció révén töltenek be szerepet. A klasszikus afferens funkció során az aktivált érzőideg-végződésben bekövetkező Ca^{2+} -szint emelkedés primer neuronális jelátviteli folyamatokat indítanak el. E jelek a központi idegrendszer megfelelő nociceptív területeire jutnak, ahol kialakul a nocicepció. A lokális efferens funkció lényege, hogy az aktivációt követő Ca^{2+} -beáramlás neuropeptidek (pl. CGRP, P-anyag) felszabadulását váltja ki, amelyek értágulatot, plazmafehérje-kiáramlást és immunsejt-aktivációt idéznek elő, neurogén gyulladást létrehozva (20, 42). Ezt a folyamatot a szakirodalom is a TRPV1- és/vagy TRPA1-mediált gyulladás egyik központi mechanizmusaként írja le, amely kulcsszerepet játszik a bőr és más perifériás szövetek neurogén és krónikus gyulladásos folyamataiban (43, 44). E neurogén gyulladás kezelésére napjainkig nincs kielégítő terápia, így jelenleg is aktív kutatási terület. Aktiváció hatására azonban nem csak gyulladásos neuropeptidek, hanem gyulladásgátló neuropeptidek, opioid peptidek, hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) és szomatosztatin (SOM) is felszabadulnak. Ezek a szisztémás keringésbe jutva a test egyéb területein fejtenek ki fájdalomcsillapító, gyulladáscsökkentő hatást (21). E három folyamat együttesen alkotja a CAPS-érzékeny érzőideg-végződés hármas funkcióját.

2.6. A lipid raftok

A TRP ioncsatornák szerkezete és funkciója jól jellemzett, ugyanakkor a receptorokat körülvevő plazmamembrán lipid környezete lényegesen kevésbé feltárt. A folyékony mozaik modell szerint a plazmamembránban a lipidek homogén módon rendeződnek, a membránfehérjék pedig véletlenszerűen oszlanak el a foszfolipid kettős rétegben (45, 46). Ezzel szemben a lipid raft modell rámutatott, hogy a plazmamembrán laterálisan heterogén: folyadékrendezett (L_o) és folyadékrendezetlen (L_d) mikrodoménekre tagolódik (47, 48).

A lipid raftok 10–200 nm átmérőjű, koleszterin- és szfingolipid-gazdag, dinamikus mikrodomének, amelyek eltérő fiziko-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek a membrán többi régiójához képest. Ezek a struktúrák membránfehérjék funkcionális platformjaiként szolgálnak, és alapvetően befolyásolják a jelátviteli komplexek szerveződését és stabilitását (49). A lipid raftok koleszterintartalma kulcsszerepet játszik integritásuk fenntartásában, amely meghatározó a bennük lokalizálódó receptorok és ioncsatornák működéséhez kapcsolódóan.

A lipid raftok mára nem csupán strukturális elemeknek, hanem a nociceptív és gyulladásos jelátvitel alapvető szabályozóegységeinek tekinthetők. Számos, fájdalomérzékelésben kulcsszerepet játszó

ioncsatorna és receptor – különösen a TRP-csatornák – működése szoros kapcsolatban áll a membrán koleszterin- és szfingolipid-tartalmával (50, 51). A nociceptív TRP-csatornák (pl. TRPV1, TRPA1) jelentős része lipid raftokhoz kötődve működik, ahol a mikrodomének elősegítik a receptorok megfelelő lokalizációját és aktivációját (50, 52). A lipid raftok farmakológiai bontása – koleszterin-deplécióval, szfingomielin-hidrolízissel vagy glikoszfingolipid-szintézis gátlásával – csökkenti e csatornák agonista-indukálta aktivációját, a hatás mértéke és jellege azonban kutatások alapján agonista- és csatornaspecifikus lehet (53–55). Állatkísérletes modellek egyértelműen igazolták, hogy a lipid raftok szerkezeti és kompozíciós változásai hozzájárulnak a neuropátiás és gyulladásos fájdalom fenntartásához, valamint a mechanikai allodínia kialakulásához. A lipid raftok integritásának farmakológiai megbontása perifériás antinociceptív hatást fejt ki, több nociceptív TRP-csatornát érintve (56–58). Emellett a központi idegrendszeri neuroinflammáció során kialakuló ún. inflammaraftok a glia-eredetű gyulladásos jelátvitel kulcselemei, és jelentősen hozzájárulnak a centrális szenzitizációhoz (51).

2.7. A CD-származékok jelentősége a lipid raft kutatásban és potenciális szerepük a fájdalomcsillapításban

A CD-k a lipid raftok farmakológiai vizsgálatának egyik legkorábban bevezetett és legszélesebb körben alkalmazott vegyületcsaládját képezik. Fő hatásmechanizmusuk a membrán koleszterintartalmának módosításán alapul, amely közvetlenül befolyásolja a lipid raftok szerkezetét és integritását. A lipid raft diszrupció CD-kkel történő megközelítése az 1990-es évek végétől vált elterjedtté, amikor leírták, hogy a koleszterin célzott eltávolítása alkalmas módszer a raft-függő receptor- és jelátviteli folyamatok funkcionális vizsgálatára (59, 60).

A leggyakrabban alkalmazott CD-származékok a β -ciklodextrin (BCD) és módosított formái, különösen a metil- β -ciklodextrin (MCD), a hidroxipropil- β -ciklodextrin (HPBCD) és a szulfobutil-éter- β -ciklodextrin (SBECD). Az MCD gyors és hatékony koleszterin-eltávolító képessége miatt a lipid raft kutatás gold standardja, ugyanakkor erőteljes membránhátásai miatt elsősorban akut *in vitro* vizsgálatokra alkalmas. A HPBCD és SBECD kíméletesebb, ami lehetővé teszi a membránlipidek finomabb modulációját és jobb tolerálhatóságot biztosít különböző modellrendszerekben (60, 61).

A CD-kkel végzett kísérletek előnye, hogy gyors, reverzibilis és jól kontrollálható módon módosítják a plazmamembrán lipid összetételét, ugyanakkor nem teljesen szelektív hatásuk miatt körültekintő alkalmazást igényelnek. A módszer széles körben hozzájárult annak igazolásához, hogy számos receptor és ioncsatorna működése függ a lipid raftok integritásától (61).

A CD-k jelentősége túlmutat az alapkutatáson: a gyógyszeriparban régóta alkalmazzák őket oldhatóság- és stabilitásfokozó vivőanyagként, valamint fejlett gyógyszerbeviteli rendszerek komponenseiként. Kémiai módosításaik révén különböző farmakokinetikai és farmakodinámiai

előnyök érhetők el, és a CD-k ma már számos gyógyszerformában jelen vannak (62, 63). Egyes ciklodextrin-származékok önálló hatóanyagként is klinikai jelentőségre tettek szert, amit jól példáz a sugammadex (SBECD) aneszteziológiai alkalmazása, illetve a HPBCD vizsgálata és alkalmazása a Niemann–Pick C betegség kezelésében (64, 65).

Mivel számos nociceptív receptor és ioncsatorna – különösen a TRP-csatornák – koleszteringazdag lipid raft régiókban lokalizálódik, a CD-származékok potenciális fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő szerepe is felmerült. Preklinikai fájdalommodellekben a raft-integritás célzott megbontása igazoltan csökkentette a nocifenzív válaszokat és modulálta a nociceptív jelátvitelt (57, 58, 66).

A CD-k tehát a lipid raft kutatás és a modern gyógyszerfejlesztés fontos eszközei. A fájdalomkutatásban olyan többhatású modulátorként jelennek meg, amelyek a membrán lipid környezetén keresztül képesek befolyásolni komplex nociceptív folyamatokat, és így új terápiás megközelítések alapját képezhetik.

3. Célkitűzések

A fájdalom kezelésének korlátai rávilágítanak arra, hogy a jelenleg használt analgetikumok sok esetben elégtelen hatásúak, vagy alkalmazásukat jelentős mellékhatások teszik korlátozottá. Bár a TRP ioncsatornák – különösen a TRPV1 és TRPA1 – régóta ismert célpontjai a fájdalomcsillapításnak, a klasszikus receptorantagonista megközelítések klinikai alkalmazása eddig nem bizonyult sikeresnek. Egyre inkább előtérbe kerül ezért a nociceptív jelátvitel membránszintű modulációja, különösen a lipid raft mikrodomének célzott befolyásolása, amelyek kulcsszerepet játszanak számos fájdalomérző receptor működésében. A CD-k koleszterinmegkötő tulajdonságuk révén képesek megbontani ezeket a raft struktúrákat, így új, perifériásan ható fájdalomcsillapító megközelítést kínálnak a neurogén gyulladás és a TRP ioncsatorna-mediálta nocicepció csökkentésére. Ez a stratégia lehetőséget teremt olyan innovatív terápiák fejlesztésére, amelyek hatékonyak, ugyanakkor elkerülik a központi idegrendszeri mellékhatásokat és a hőérzékelés károsodását. E kutatás célja annak feltárása, hogy a CD-k alkalmazása a lipid raftok célzott modulációjára milyen mértékben járulhat hozzá új, perifériásan ható, biztonságosabb fájdalomcsillapító megoldások fejlesztéséhez.

A doktori munka fő irányvonalai:

1. különböző kémiai tulajdonságú (metilezett/nem metilezett, anionos/kationos/nemionos) és izomer tisztaságú CD-származékok összehasonlítása sejtes modellekben a biztonságossági, plazmamembránra való strukturális, és TRPA1, valamint TRPV1 ioncsatornákra irányuló funkcionális hatások tekintetében;
2. az *in vitro* vizsgálatok eredményei alapján kiválasztott CD-származékok vizsgálata TRPA1- és TRPV1-mediálta akut fájdalom és gyulladás egér modelljeiben;
3. a kiválasztott CD származékok és a koleszterin közötti kölcsönhatás erősségének *in silico* vizsgálata.

4. Kísérleti modellek, vizsgálati módszerek

4.1. A vizsgált CD-származékok

A kísérletekben használt CD-származékok a CycloLab Ciklodextrin Kutató-Fejlesztő Kft.-től származtak. A vizsgált CD-származékok fontosabb tulajdonságait az **1. táblázat** foglalja össze. A használt CD oldatokat minden alkalommal a CD kezelés előtt frissen állítottuk elő: megfelelő mennyiségű CD-származékot oldottunk az adott kísérletben alkalmazott tápközegben (komplett Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), extracelluláris oldat (extracellular solution, ECS), fiziológias sóoldat vagy etanol).

CD-származék	Rövidítés	Összegképlet	Kémiai karakter
(2-Hidroxipropil)-gamma-ciklodextrin	HPGCD	$C_{48}H_{80-n}O_{40} (C_3H_7O)_n$	Nem metilezett, nemionos
(2-Hidroxipropil)-béta-ciklodextrin	HPBCD	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (C_3H_7O)_n$	Nem metilezett, nemionos
Szulfobutiléter-béta-ciklodextrin nátrium sója	SBECD	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (C_4H_8Na)_n$	Nem metilezett, anionos
(2-Hidroxi-3-N,N,N-trimetilamino)propil-béta-ciklodextrin	QABCD	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (C_6H_{15}ONCl)_n$	Nem metilezett, kationos
Random metilezett béta-ciklodextrin	RAMEB	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (CH_3)_n$	Metilezett, nemionos
Heptakis(2,6-di-O-metil)-béta-ciklodextrin	DIMEB-50	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (CH_3)_n$	Metilezett, nemionos, izomer tisztaság: ~ 50%
Heptakis(2,6-di-O-metil)-béta-ciklodextrin	DIMEB-50	$C_{42}H_{70-n}O_{35} (CH_3)_n$	Metilezett, nemionos, izomer tisztaság: ~ 95%
Heptakis(2,3,6-tri-O-metil)-béta-ciklodextrin	TRIMEB	$C_{63}H_{112}O_{35}$	Metilezett, nemionos

1. táblázat

A vizsgált CD származékok főbb tulajdonságai (CycloLab Ciklodextrin Kutató-Fejlesztő Kft., <https://cyclolab.hu/> alapján).

4.2. Sejtvonalak fenntartása

Natív és TRPA1, illetve TRPV1 receptor-expresszáló CHO sejteket standard sejtenyésztési körülményeket (37 °C, 5 % CO₂) biztosító inkubátorban növesztettünk. Az adherens sejteket T-25 méretű sejtenyésztő flaskában növesztettük, 70-80 %-os konfluencia elérése esetén kerültek passzázsra.

4.3. Sejt életképesség (viabilitás) vizsgálatok

A CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay az élő sejtek intracelluláris ATP-szintjének mérésén alapul, ezáltal indirekt módon információt adva az élő sejtek arányáról a kezelést követően. Natív CHO sejteket 96-lyukú tenyésztőlemezre ültettünk, majd egy éjszakán át tartó inkubációt (37 °C, 5% CO₂) követően a médiumot növekvő koncentrációjú CD-oldatokkal helyettesítettük. 24 órán át tartó kezelés után a lumineszcens jelet mikrolemez olvasó készülékkel mértük.

4.4. Mitokondriális membránpotenciál elemzés

A MitoTracker™ Red CMXRos fluoreszcens festés a sejtek mitokondriális membránpotenciáljának mérésén alapuló módszer. Natív CHO sejteket ültettünk 10-lyukú tárgylemezre, majd a sejteket 24 órán át CD-oldatokkal kezeltük, végül festettük. A sejtek teljes mélységében 1 µm-es lépésközökkel Z-stack (optikai szelet sorozat) felvételeket készítettünk lézer pásztázó konfokális mikroszkóppal.

4.5. A sejtmembrán rendezettségének vizsgálata fluoreszcencia spektroszkópiával

A Laurdan festést követően végzett fluoreszcencia-spektroszkópia alkalmas módszer a membrán lipid fázisainak rendezettségi állapotának vizsgálatára. Natív CHO sejteket 12-lyukú lemezben tenyésztettünk, majd CD-oldatokkal kezeltük 45 percig. Laurdan festést követően fluoreszcencia spektroszkópiai méréseket végeztünk. A Laurdan emissziós spektrumát 360 nm-es gerjesztés mellett 400–600 nm között rögzítettük, míg a gerjesztési spektrumot 300–420 nm tartományban mértük 432 nm-es emisszióval. A membrán rendezettségét a generalizált polarizációs (GP) érték alapján határoztuk meg az emissziós intenzitások (435 és 500 nm) felhasználásával. A membrán fluiditását fluoreszcencia-anizotrópia számítással jellemeztük polarizált emissziós intenzitásokból.

4.6. Koleszterin deplécio feltérképezése fluoreszcencia mikroszkópiával

Az intracelluláris koleszterin mennyiségét filipin III fluoreszcens festéssel határoztuk meg. Natív CHO sejteket 10-lyukú sejtenyésztő tárgylemezen tenyésztettünk, majd ECS-ben oldott CD-származékokkal kezeltünk 1 órán át (37 °C, 5% CO₂). A koleszterinfestést filipin III oldattal végeztük 2 órán keresztül szobahőmérsékleten. A mintákat konfokális mikroszkóppal vizualizáltuk DAPI szűrőkészlet alkalmazásával. A sejtenkénti fluoreszcencia-intenzitást ImageJ szoftverrel határoztuk meg háttérkorrekciót követően. Az egyes kezelési csoportok intenzitásértékeit kezeletlen kontrollokhoz viszonyítottuk, sejtszintű kvantitatív kiértékeléssel.

4.7. Radioaktív kalcium izotóp-beáramlás mérése TRPV1 vagy TRPA1 receptor-expresszálo CHO sejtekben

A CD-származékok TRPA1 és TRPV1 receptoraktivációra gyakorolt hatását ⁴⁵Ca²⁺ izotóp-beáramlásméréssel vizsgáltuk. A receptorokat stabilan expresszálo CHO sejteket 72-lyukú

tenyésztőedényben tenyésztettük, majd növekvő koncentrációjú CD-oldatokkal kezeltük 30 percig. A sejteket TRPA1 (allil-izotiocianát, AITC, 200 μ M) vagy TRPV1 (CAPS, 100 nM) agonistát és $^{45}\text{Ca}^{2+}$ izotópot tartalmazó tesztoldattal inkubáltuk 2 percig szobahőmérsékleten. A reakció leállítását követően a sejteket többször mostuk, majd szárítást követően lizáltuk a felhalmozódott $^{45}\text{Ca}^{2+}$ izotóp kinyerése céljából. A lizátum radioaktivitását folyadékszintillációs számlálóval mértük percenkénti beütésszámban (CPM). Az eredményeket kezeletlen kontrollokhoz viszonyítottuk.

4.8. Formalin-indukálta akut gyulladásos fájdalom modell

A CD-származékok akut nocicepcióra gyakorolt hatását formalin-indukált szomatikus fájdalommodellben vizsgáltuk. Az állatokon a TRPA1 agonista formalin (2,5 %, 20 μ L) intraplantáris (i.pl.) beadását megelőzően 30 perccel CD-előkezelést alkalmaztunk (20 μ L). A formalin beadását követően kialakuló jellegzetes nocifenzív viselkedés (a kezelt végtag rázása, nyalogatása, emelése) időtartamát rögzítettük az akut, szenzoros idegvégződés közvetlen aktivációjához köthető korai fázisban (0–5 perc), valamint a neurogén gyulladás dominálta késői fázisban (20–45 perc).

4.9. RTX-kiváltotta termális hiperalgézia és mechanikai allodínia modell

A CD-származékok TRPV1-mediált nociceptív válaszokra gyakorolt hatását RTX által kiváltott neurogén gyulladásos fájdalommodellben vizsgáltuk. A termális fájdalomküszöböt fokozatosan melegedő forró lappal (hot plate), míg a mechanikai érzékenységet dinamikus plantáris eszteziométerrel (DPA) mértük. Az állatok 30 perccel az RTX (0,1 μ g/mL, 20 μ L, i.pl.) beadása előtt CD-előkezelést (20 μ L, i.pl.) kaptak. A termonociceptív küszöbértékeket az RTX injekciót követően 10, 20 és 30 perccel, míg a mechanikai hiperalgéziát 30 és 90 perccel a kezelés után vizsgáltuk. Pozitív kontrollként vivőanyaggal előkezelt, majd RTX-szel kezelt állatok szolgáltak.

4.10. Mustárolaj (MO)-indukálta akut bőrgyulladás egér modell

A CD-előkezelés érrendszeri hatásait mustárolaj (MO) által kiváltott akut neurogén bőrgyulladás modellben vizsgáltuk. Az állatokat egyik fülére etanolt (kontroll), másikkra etanolban oldott CD-oldatot kentünk (10–10 μ L, bilaterálisan). Harminc perccel később a bal fülre 1%-os MO-oldatot, míg a jobb fülre önkontrollként paraffinolajat alkalmaztunk azonos térfogatban. A MO kezelés után azonnal megkezdtük a bőr perfúziójának monitorozását lézer speckle kontrasztanalízissel 20 percen keresztül. A kezelt és referencia füleken azonos méretű területeket kijelölve a perfúziós értékek közötti százalékos eltérést hasonlítottuk össze a kísérleti csoportok között. A fülödéma mértékét mérnöki mikrométerrel határoztuk meg a kezelés előtt, valamint a MO alkalmazását követő 60., 120., 180. és 240. percben.

4.11. Kolorimetriás szabad koleszterinszint mérés egér fül és talp szövetből

CD-előkezelést követően az egér fül- és talpbőr szabad koleszterintartalmát kolorimetriás módszerrel határoztuk meg Cholesterol/Cholesteryl Ester Quantitation Assay kit alkalmazásával. Az állatokat CD-oldatokkal vagy megfelelő vivőanyaggal kezeltük, majd 30 perc elteltével termináltuk és szövetmintákat gyűjtöttünk. A szöveteken szerves oldószeres extrakciót végeztünk, majd a lipid fázist besűrítettük és esszé pufferben oldottuk. A szabad koleszterin mennyiségét a gyártó protokollja szerint végzett kolorimetriás reakció alapján, 570 nm-en mért optikai denzitásból határoztuk meg. Az értékeket mintatömegre és hígítási tényezőre korrigáltuk, majd standardkalibrációs görbéhez viszonyítottuk.

4.12. Molekulamodellezés és *in silico* vizsgálatok

A β -ciklodextrin (BCD) kristályszerkezetét egy ismert CD-enzim komplexből (PDB: 3cgt) nyertük. A CD-származékok (HPBCD, SBECd, RAMEB) szubsztituenseit a szubsztitúciós fok (DS) és irodalmi adatok alapján a PyMOL programmal adtuk hozzá. A koleszterin molekulát Maestro programmal építettük fel. Az összes szerkezetet PM7 paraméterezéssel, MOPAC programcsomaggal energia-optimalizálást végeztünk. A dokkolási számításokat AutoDock 4.2.6 programmal végeztük, flexibilis koleszterin és rigid gazdamolekulák alkalmazásával. A számítások során vak dokkolást, Lamarck-féle genetikai algoritmust és lokális keresést használtunk. Az eredményeket a számított szabad kötési energia és struktúrahasonlóság alapján értékeltük, és a legkedvezőbb kötődési módot választottuk reprezentatív konformációként.

4.13. Állatok és etikai vonatkozások

A vizsgálatokhoz 12–16 hetes hím NMRI egereket alkalmaztunk, standard tartási körülmények között, legalább kéthetes habituációt követően. Valamennyi állatkísérlet a vonatkozó magyar jogszabályoknak megfelelően, a Pécsi Tudományegyetem Állatkísérleti Etikai Bizottságának engedélyével történt (engedélyszám: BA02/2000-22/2023).

4.14. Statisztikai módszerek

Az *in vitro* kísérleteket legalább három független ismétlésben végeztük. Az elemszám meghatározása *a priori* power analízissel történt. Az adatokat átlag $\pm$ SEM formában adtuk meg. A statisztikai elemzésekhez normalitásvizsgálatot követően parametrikus vagy nemparaméteres próbákat, valamint megfelelő többszörös összehasonlító tesztek alkalmaztunk GraphPad Prism és OriginPro szoftverekkel. A szignifikanciaszint $p < 0,05$ volt.

5. Eredmények

5.1. A metilezett CD-származékok csökkentik a CHO sejtek életképességét, a nem metilezettek azonban nem

A CellTiter-Glo® mérések szerint a nem metilezett CD-k 10 mM-ig nem csökkentették a viabilitást, a HPGCD 50–100 mM-en is biztonságos maradt. A metilezett származékok közül a szignifikáns citotoxicitás DIMEB-95 (0,75 mM) > DIMEB-50 (1 mM) = TRIMEB (1 mM) > RAMEB (3 mM) sorrendben jelent meg. A hidroxipropilezett származékoknál emelkedett lumineszcens jel volt detektálható, mely a sejtek fokozott ATP termelésével hozható összefüggésbe.

5.2. Bizonyos nem-metilezett CD-származékok fokozzák, a metilezett származékok csökkentik a CHO sejtek mitokondriális membránpotenciálját

A MitoTracker™ Red CMXRos fluoreszcens festék intenzitása – amely az aktívan működő mitokondriumokat jelzi – szignifikánsan megnőtt 24 órás HPGCD, HPBCD és QABCD (10 mM) kezelés után a kontrollhoz (kezeletlen sejtek, 100 %) képest. Ezzel szemben a metilezett származékok csökkentették a fluoreszcencia intenzitását még olyan koncentrációk mellett is, amelyek nem befolyásolták a sejtek viabilitását, kivéve a DIMEB-50-et.

5.3. Valamennyi CD-származék csökkenti a CHO sejtek koleszterintartalmát

A CD-származékok koleszterincsökkentő hatásának vizsgálatához összehasonlítottuk a kezeletlen kontroll CHO sejtek filipin III festését a CD-oldatokkal kezelt sejtekével, olyan koncentrációk alkalmazásával, amelyek nem befolyásolták a sejtek életképességét. A CD-származékok kezelése szignifikánsan csökkentette a filipin III jelintenzitást, igazolva a koleszterin depléciót.

5.4. A CD-származékok közül a DIMEB-50 bontja meg leginkább a membrán rendezettségét

A Laurdan festést követő spektroszkópai vizsgálatok alapján a DIMEB-50 és RAMEB okozták a legjelentősebb spektrális vörös eltolódást, amelyek magasabb dielektromos állandóra és rendezetlenebb membrán-mikrokörnyezetre utalnak. Valamennyi vizsgált CD-származék esetében kimutatható volt enyhe eltolódás az L_d állapot irányába a kontrollhoz képest. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a fluoreszcencia-anizotrópia spektrumokon.

5.5. A CD-származékok gátolják az *in vitro* TRPV1 és TRPA1 receptoraktivációt

A CD kezelések valamennyi vizsgált CD-származék esetében koncentrációfüggő módon csökkentették a TRPV1 aktivációját. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a TRPA1 esetében is: a legmagasabb

koncentrációban alkalmazott CD-származékok jelentősen gátolták az AITC által kiváltott $^{45}\text{Ca}^{2+}$ -felvételt, egyedül a DIMEB-50 nem mutatott szignifikáns gátló hatást.

5.6. A CD-származékok csökkentik a TRPA1-aktiváció által kiváltott akut nocifenzív viselkedést

A CD-kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a nocifenzív viselkedés időtartamát a kísérlet első fázisában. Ezzel szemben a neurogén gyulladással összefüggő második fázisban a nocifenzív viselkedés időtartama szignifikánsan csökkent.

5.7. A CD-származékok enyhítik a TRPV1-aktiváció által kiváltott akut mechanikai allodíniát, de nincs hatásuk a termális hiperalgéziára

A TRPV1 receptor RTX agonistával történő i.pl. kezelést követően a kiindulási értékhez képest csökkent az állatok mechanonociceptív küszöbértéke. A CD-előkezelés mérsékelte az akut mechanikai allodíniát, ám a termális hiperalgéziát a CD-előkezelés nem befolyásolta.

5.8. A CD kezelés csökkenti a TRPA1-aktiváció által kiváltott akut neurogén vazodilatációt a bőrben

A TRPA1 receptor agonista MO-indukálta akut bőrgyulladás modellben a lézer speckle kontrasztanalízis eredményei alapján az érintett fül bőrének vérperfúziója emelkedett a referenciaként szolgáló fülhöz viszonyítva. Ezzel szemben a CD-előkezelt csoportokban ez a növekedés jelentősen csökkent. A fülvastagság-mérések alapján az érintett fülben ödéma alakult ki. A CD előkezelés ezt az ödémaképződést mérsékelte.

5.9. A CD kezelés csökkenti a plantáris bőr és a fül teljes koleszterintartalmát

A kolorimetriás mérésben kapott eredmények alapján a kontrollhoz viszonyítva az egér talpi bőr és fül szövet szabad koleszterintartalma szignifikánsan csökkent CD-kezelés hatására.

5.10. A CD-származékok különböző koleszterin-kötődési sajátosságokat mutatnak

A CD-származékok és a koleszterin kölcsönhatásának módját *in silico* modellezve a HPBCD és az SBECD esetében a koleszterin kötődése nagyon hasonló mintázatot mutatott, miközben a RAMEB zártabb konformációja megakadályozta a ligandum mélyebb beágyazódását az üregbe. A szerkezeti megfigyeléseket az energetikai elemzés is alátámasztotta: a RAMEB kissé pozitívabb kötődési szabadenergia (ΔG_b) értéke arra utal, hogy az 1:1 arányú kötődés önmagában nem elegendő stabil komplex képzéséhez.

6. Megbeszélés, következtetések

Jelen munkában nyolc különböző CD-származék *in vitro*, valamint három kiválasztott származék *in vivo* hatásait vizsgáltuk, különös tekintettel a membránkoleszterin-tartalomra, a TRPV1 és TRPA1 ioncsatornák működésére, valamint a nociceptív és gyulladásos folyamatokra gyakorolt hatásaikra.

In vitro kísérleteink elsőként igazolták, hogy a CD-származékok citotoxicitása, mitokondriális membránpotenciálra gyakorolt hatása és koleszterin-depléciós képessége szerkezetfüggő. A metilezett CD-származékok alacsonyabb koncentrációk mellett fejtettek ki kifejezettebb koleszterin-eltávolító és TRP-ioncsatorna-gátló hatást, ugyanakkor kedvezőtlenebb biztonsági profilt mutattak. Ezzel szemben a hidroxipropilezett és ionos származékok kedvező biztonságossági paraméterek mellett is jelentős membránhatással rendelkeztek, bár magasabb koncentrációban.

A fluoreszcens membránszerkezeti vizsgálatok és a mitokondriális membránpotenciál mérések alapján a CD-kezelések csökkentették a membrán rendezettségét, különösen a metilezett származékok esetében, ami a lipid raftok diszrupciójára utal. Ezzel párhuzamosan funkcionális méréseink alapján valamennyi vizsgált CD-származék koncentrációfüggő módon gátolta a TRPV1 és TRPA1 ioncsatornák agonista-indukált aktivációját, valamint az ehhez kapcsolódó Ca^{2+} -beáramlást. Ezek az eredmények alátámasztják azt, hogy a membránkoleszterin mennyiségének csökkenése és a lipid mikrokörnyezet átrendeződése kulcsszerepet játszik a TRP-ioncsatornák működésének szabályozásában.

Az *in vivo* kísérletekhez kiválasztott CD-származékok (RAMEB, HPBCD, SBECD) perifériás alkalmazása csökkentette a formalin-indukált gyulladásos nocifenzív válaszokat a kísérlet második szakaszában, amely a gyulladásos neuropeptidek felszabadulásával áll összefüggésben. A CD-előkezelés emellett mérsékelte az RTX-által kiváltott mechanikai allodíniát, valamint a MO-indukálta neurogén gyulladást és az ahhoz társuló vaszkuláris válaszokat. Fontos megfigyelés volt, hogy a kezelések nem befolyásolták szignifikánsan a termális nocicepciót, ami kedvező tulajdonság a TRP ioncsatornákat célzó beavatkozások klinikai alkalmazhatósága szempontjából.

A szöveti koleszterinszint meghatározása megerősítette, hogy a megfigyelt *in vivo* hatások koleszterin-deplécióval társulnak. Az *in silico* dokkolási vizsgálatok feltárták, hogy a metilezett és nem metilezett CD-származékok eltérő módon képeznek komplexet a koleszterinnel. A RAMEB esetében a 2:1 sztöchiometriájú komplexképződés lehetősége stabilabb kötődést eredményezhet, ami magyarázatot adhat kifejezettebb koleszterin-eltávolító hatására és fokozott citotoxicitására. Ezzel szemben a HPBCD és SBECD inkább 1:1 arányú komplexeket alkot, ami mérsékeltebb, ugyanakkor kedvezőbb biztonsági profillal jár.

Összességében eredményeink arra utalnak, hogy a CD-származékok a membrán lipid mikrodoménjeinek módosításán keresztül képesek befolyásolni a TRPV1 és TRPA1 ioncsatornák

perifériás aktivációját, ezáltal antinociceptív és gyulladáscsökkentő hatást fejtenek ki. A nem metilezett CD-származékok kedvező hatékonyság–biztonság aránya alapján ígéretes kiindulópontot jelenthetnek új, perifériás hatású fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő terápiás stratégiák fejlesztéséhez, míg a metilezett származékok esetében a potenciális toxicitás további optimalizációt igényel.

7. Új eredmények összefoglalása

Kutatásunkban a TRPV1 és TRPA1 ioncsatornák aktivációjának gátlását vizsgáltuk a lipid raftok koleszterin deplációval történő diszrupcióján keresztül, *in silico*, *in vitro* és *in vivo* megközelítéseket kombinálva. Elsőként értékeltük átfogóan, hogy különböző kémiai tulajdonságú és izomerösszetételű CD-származékok miként befolyásolják a nociceptív jelátvitel membránszintű szabályozását.

1. Megállapítottuk, hogy a CD-származékok kémiai módosításai és izomer tisztasága meghatározzák koleszterinmegkötő képességüket, sejtbiztonsági profiljukat, a plazmamembrán szerkezetére és ioncsatorna aktivációra gyakorolt funkcionális hatásukat. Azonosítottunk olyan CD-származékokat, amelyek hatékonyan bontják meg a lipid raftokat, miközben kedvező biztonságossági jellemzőkkel rendelkeznek.
2. *In vitro* igazoltuk, hogy a kiválasztott CD-k jelentősen csökkentik a TRPV1- és TRPA1-mediált Ca^{2+} -jelválaszokat - nem receptorantagonista módon, hanem a raft-függő aktiváció gátlásával. Ez új mechanisztikus megközelítést kínál a TRP-csatornák modulációjára.
3. *In vivo* kimutattuk, hogy a CD-származékok hatékonyan mérséklék a TRPA1- és TRPV1-mediálta akut nociceptív és gyulladásos válaszokat egérmodellekben, miközben nem befolyásolják a fiziológias hőérzékelést, így perifériásan ható, biztonságosabb analgetikus potenciállal bírnak.
4. *In silico* vizsgálataink feltárták a CD-k és a koleszterin közötti kölcsönhatás szerkezet- és affinitásfüggő jellegét, amely jól korrelált a kísérletes membránmoduláló hatásokkal, és támogatja a célzottan optimalizált CD-alapú terápiák tervezését.

Eredményeink összességében új, membránszintű megközelítést alapoznak meg a TRP ioncsatorna-mediálta kóros nociceptív folyamatok csökkentésére, és hozzájárulnak perifériásan ható, biztonságosabb fájdalomcsillapító stratégiák fejlesztéséhez.

8. Irodalomjegyzék

1. International Association for the Study of Pain. 2026. IASP Terminology.
2. Hoegh, M., and P. Hodges. 2025. Pain Science in Practice (Part 8): *Nociceptive, Neuropathic, and Nociplastic Pain*. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*. **55**: 555–560.
3. Maio, G. Di, I. Villano, C. R. Ilardi, A. Messina, V. Monda, A. C. Iodice, C. Porro, M. A. Panaro, S. Chieffi, G. Messina, M. Monda, and M. La Marra. 2023. Mechanisms of Transmission and Processing of Pain: A Narrative Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. **20**.
4. Tracey, W. D. 2017. Current Biology Nociception.
5. Dehghan, B., N. Abolhasanzadeh, B. Shademan, and A. Nourazarian. 2024. Deciphering pain: molecular mechanisms and neurochemical pathways—challenges and future opportunities. *Front. Mol. Biosci.* **11**.
6. Galdino, G., F. P. Veras, and T. dos Anjos-Garcia. 2024. The Role of the Thalamus in Nociception: Important but Forgotten. *Brain Sci.* **14**.
7. Marsh, J. D. 2013. In *Pain* (Copstead, L. S., and Banasik, J. L., eds.). 6th Ed., pp. 960–972.
8. Lee, G. I., and M. W. Neumeister. 2020. Pain: Pathways and Physiology. *Clin. Plast. Surg.* **47**: 173–180.
9. Seidel, M. F., T. Hügler, B. Morlion, M. Koltzenburg, V. Chapman, A. MaassenVanDenBrink, N. E. Lane, S. Perrot, and W. Ziegler. 2022. Neurogenic inflammation as a novel treatment target for chronic pain syndromes. *Exp. Neurol.* **356**.
10. Catalisano, G., G. M. Campione, G. Spurio, A. N. Galvano, C. P. di Villalba, A. Giarratano, A. Alongi, M. Ippolito, and A. Cortegiani. 2024. Neuropathic pain, antidepressant drugs, and inflammation: a narrative review. *Journal of Anesthesia, Analgesia and Critical Care*. **4**.
11. Thapa, R., and D. Ang. 2025. Nociplastic pain: A practical guide to chronic pain management in the primary care setting. *Cleve. Clin. J. Med.* **92**: 236–247.
12. Soliman, N., N. Soliman, X. Moisset, M. C. Ferraro, D. Ciampi De Andrade, R. Baron, J. Belton, D. L. H. Bennett, M. Calvo, P. Dougherty, I. Gilron, A. J. Hietaharju, K. Hosomi, P. R. Kamerman, H. Kemp, E. K. Enax-Krumova, E. McNicol, T. J. Price, S. N. Raja, A. S. C. Rice, B. H. Smith, F. Talkington, A. Truini, J. Vollert, N. Attal, and N. B. Finnerup. 2025. Pharmacotherapy and non-invasive neuromodulation for neuropathic pain: a systematic review and meta-analysis. [online] www.covidence.org.
13. Labianca, R., P. Sarzi-Puttini, S. M. Zuccaro, P. Cherubino, R. Vellucci, and D. Fornasari. 2012. Adverse Effects Associated with Non-opioid and Opioid Treatment in Patients with Chronic Pain.
14. Fairbanks, C. A., and C. D. Peterson. 2023. The opioid receptor: emergence through millennia of pharmaceutical sciences. *Frontiers in Pain Research*. **4**.
15. Kataria, S., U. Patel, K. Yabut, J. Patel, R. Patel, S. Patel, J. H. Wijaya, P. Maniyar, Y. Karki, M. P. Makrani, O. Viswanath, and A. D. Kaye. 2024. Recent Advances in Management of Neuropathic, Nociceptive, and Chronic Pain: A Narrative Review with Focus on Nanomedicine, Gene Therapy, Stem Cell Therapy, and Newer Therapeutic Options. *Curr. Pain Headache Rep.* **28**: 321–333.
16. Ovsepiyan, S. V., and S. G. Waxman. 2023. Gene therapy for chronic pain: emerging opportunities in target-rich peripheral nociceptors. *Nat. Rev. Neurosci.* **24**: 252–265.
17. Mattioli, R., A. Mariano, A. Torpey, E. Bellow, V. Samojedny, S. Ahluwalia, A. Desai, W. Caldwell, and S. Bergese. 2024. Nanotechnology in Pain Management. [online] <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16111479>.
18. Högyes, E. 1878. Beiträge Zur physiologischen Wirkung der Bestandteile des Capsaicum animum. *Arch. Exp. Pathol Pharmacol.* 117–130.

19. Jancsó, M. 1955. Speicherung. Stoffanreicherung in Retikuloendothel und in der Niere.
20. Szolcsányi, J. 2004. Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides*. **38**: 377–384.
21. Szolcsányi, J. 1996. Chapter 20. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroculatory mechanism. *Prog. Brain Res.* **113**: 343–359.
22. Szállási, Á., and P. M. Blumberg. 1990. Specific binding of resiniferatoxin, an ultrapotent capsaicin analog, by dorsal root anglion membranes. *Brain Res.* **524**: 106–111.
23. Wood, J. N., J. Winter, F. James, H. P. Rang, J. Yeats, and S. Bevan. 1988. Capsaicin-Induced Ion Fluxes in Dorsal Root Ganglion Cells in Culture.
24. Bevan, S., S. Hothi, G. Hughes, I. F. James, H. P. Rang, K. Shah, C. S. J. Walpole, and J. C. Yeats. 1992. Capsazepine: a competitive antagonist of the sensory neurone excitant capsaicin. *Br. J. Pharmacol.* **107**: 544–552.
25. Caterina, M. J., and D. Julius. 2001. The Vanilloid Receptor: A Molecular Gateway to the Pain Pathway. *Annu. Rev. Neurosci.* **24**: 487–517.
26. Nilius, B., and G. Owsianik. 2011. The transient receptor potential family of ion channels. [online] <http://genomebiology.com/2011/12/3/218>.
27. Wang, H., and J. Siemens. 2015. TRP ion channels in thermosensation, thermoregulation and metabolism. *Temperature*. **2**: 178–187.
28. Gaudet, R. 2008. TRP channels entering the structural era. *Journal of Physiology*. **586**: 3565–3575.
29. Nilius, B., and A. Szallasi. 2014. Transient receptor potential channels as drug targets: From the science of basic research to the art of medicine. *Pharmacol. Rev.* **66**: 676–814.
30. Duitama, M., Y. Moreno, S. P. Santander, Z. Casas, J. J. Sutachan, Y. P. Torres, and S. L. Albarracín. 2022. Trp channels as molecular targets to relieve cancer pain. *Biomolecules*. **12**.
31. Damann, N., T. Voets, and B. Nilius. 2008. TRPs in Our Senses. *Current Biology*. **18**.
32. Fernandes, E. S., M. A. Fernandes, and J. E. Keeble. 2012. The functions of TRPA1 and TRPV1: Moving away from sensory nerves. *Br. J. Pharmacol.* **166**: 510–521.
33. Ross, R. A. 2003. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. *Br. J. Pharmacol.* **140**: 790–801.
34. Stratiievskia, A., S. Nelson, E. N. Senning, J. D. Lautz, S. E. Smith, and S. E. Gordon. 2018. Reciprocal regulation among TRPV1 channels and phosphoinositide 3-kinase in response to nerve growth factor. *Elife*. **7**: 1–13. [online] <https://elifesciences.org/articles/38869#abstract>.
35. Gees, M., Y. A. Alpizar, B. Boonen, A. Sanchez, W. Everaerts, A. Segal, F. Xue, A. Janssens, G. Owsianik, B. Nilius, T. Voets, and K. Talavera. 2013. Mechanisms of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Activation and Sensitization by Allyl Isothiocyanate. *Mol. Pharmacol.* **84**: 325–334. [online] <https://molpharm.aspetjournals.org/content/84/3/325> (Accessed January 9, 2023).
36. Prescott, E. D., and D. Julius. 2003. A Modular PIP2 Binding Site as a Determinant of Capsaicin Receptor Sensitivity. *Science (1979)*. **300**: 1284–1288.
37. Guimaraes, M. Z. P., and S.-E. Jordt. 2007. TRPA1 : A Sensory Channel of Many Talents. *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades*. [online] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5237/> (Accessed September 13, 2022).
38. Paulsen, C. E., J. P. Armache, Y. Gao, Y. Cheng, and D. Julius. 2015. Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms. *Nature*. **520**: 511–517.

39. Startek, J. B., B. Boonen, A. Ló Pez-Requena, A. Talavera, Y. A. Alpizar, D. Ghosh, N. Van Ranst, B. Nilius, T. Voets, and K. Talavera. 2019. Mouse TRPA1 function and membrane localization are modulated by direct interactions with cholesterol. [online] <https://doi.org/10.7554/eLife.46084.001>.
40. Julius, D. 2013. TRP Channels and Pain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **29**: 355–384.
41. Mickle, A. D., A. J. Shepherd, and D. P. Mohapatra. 2015. Sensory TRP channels: the key transducers of nociception and pain. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **131**: 73–118. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25744671/> (Accessed August 16, 2022).
42. Maggi, C. A. 1995. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog. Neurobiol.* **45**: 1–98.
43. Viana, F. 2016. TRPA1 channels: molecular sentinels of cellular stress and tissue damage. *J. Physiol.* **594**: 4151–4169.
44. Bautista, D. M., M. Pellegrino, and M. Tsunozaki. 2013. TRPA1: A gatekeeper for inflammation. *Annu. Rev. Physiol.* **75**: 181–200.
45. Singer, S. J., and G. L. Nicolson. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. **175**: 720–31.
46. Lehninger, A. L. 2013. Principles of Biochemistry. 6th Ed.
47. Simons, K., and E. Ikonen. 1997. Functional rafts in cell membranes. *Nature*. **387**: 569–572.
48. Rietveld, A., and K. Simons. 1998. The differential miscibility of lipids as the basis for the formation of functional membrane rafts.
49. Simons, K., and R. Ehehalt. 2002. Cholesterol, lipid rafts, and disease. *Journal of Clinical Investigation*. **110**: 597–603.
50. Miller, Y. I., J. M. Navia-Pelaez, M. Corr, and T. L. Yaksh. 2020. Lipid rafts in glial cells: Role in neuroinflammation and pain processing. *J. Lipid Res.* **61**: 655–666.
51. Sviridov, D., and Y. I. Miller. 2020. Biology of lipid rafts: Introduction to the thematic review series. *J. Lipid Res.* **61**: 598–600.
52. Simons, K., and D. Toomre. 2000. Lipid rafts and signal transduction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1**: 31–39.
53. Liu, M., W. Huang, D. Wu, and J. V. Priestley. 2006. TRPV1, but not P2X3, requires cholesterol for its function and membrane expression in rat nociceptors. *European Journal of Neuroscience*. **24**: 1–6.
54. Szőke, É., R. Börzsei, D. M. Tóth, O. Lengi, Z. Helyes, Z. Sándor, and J. Szolcsányi. 2010. Effect of lipid raft disruption on TRPV1 receptor activation of trigeminal sensory neurons and transfected cell line. *Eur. J. Pharmacol.* **628**: 67–74.
55. Startek, J. B., and K. Talavera. 2020. Lipid Raft Destabilization Impairs Mouse TRPA1 Responses to Cold and Bacterial Lipopolysaccharides. *Int. J. Mol. Sci.* **21**. [online] <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32481567/> (Accessed August 30, 2022).
56. Navia-Pelaez, J. M., J. Borges Paes Lemes, L. Gonzalez, L. Delay, L. Dos Santos Aggum Capettini, J. W. Lu, G. Goncalves Dos Santos, A. M. Gregus, P. M. Dougherty, T. L. Yaksh, and Y. I. Miller. 2023. AIBP regulates TRPV1 activation in chemotherapy-induced peripheral neuropathy by controlling lipid raft dynamics and proximity to TLR4 in dorsal root ganglion neurons. *Pain*. **164**: E274–E285.
57. Horváth, Á., T. Biró-Sütő, B. Kántás, M. Payrits, R. Skoda-Földes, E. Szánti-Pintér, Z. Helyes, and É. Szőke. 2020. Antinociceptive Effects of Lipid Raft Disruptors, a Novel Carboxamido-Steroid and Methyl β -Cyclodextrin, in Mice by Inhibiting Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Ankyrin 1 Channel Activation. *Front. Physiol.* **11**.

58. Horváth, Á., M. Payrits, A. Steib, B. Kántás, T. Biró-Süt, J. Erostyák, G. Makkai, É. Sághy, Z. Helyes, and É. Szőke. 2021. Analgesic Effects of Lipid Raft Disruption by Sphingomyelinase and Myriocin via Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Ion Channel Modulation. *Front. Pharmacol.* **11**.
59. Aimee, C. E., M. P. Haynes, M. C. Phillips, and G. H. Rothblat. 1997. Use of cyclodextrins for manipulationg cellular cholesterol content. *J. Lipid Res.* **38**: 2264–2272.
60. Zidovetzki, R., and I. Levitan. 2007. Use of cyclodextrins to manipulate plasma membrane cholesterol content: Evidence, misconceptions and control strategies. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1768**: 1311–1324.
61. Christian, A. E., M. P. Haynes, M. C. Phillips, and G. H. Rothblat. 1997. Use of cyclodextrins for manipulating cellular cholesterol content. *J. Lipid Res.* **38**: 2264–2272.
62. Loftsson, T., and M. E. Brewster. 2011. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Effects on drug permeation through biological membranes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **63**: 1119–1135.
63. Petitjean, M., I. X. García-Zubiri, and J. R. Isasi. 2021. History of cyclodextrin-based polymers in food and pharmacy: a review. *Environ. Chem. Lett.* **19**: 3465–3476.
64. Castagne, D., M. Fillet, L. Delattre, B. Evrard, B. Nusgens, and G. Piel. 2009. Study of the cholesterol extraction capacity of β -cyclodextrin and its derivatives, relationships with their effects on endothelial cell viability and on membrane models. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **63**: 225–231.
65. Maarup, T. J., A. H. Chen, F. D. Porter, N. Y. Farhat, D. S. Ory, R. Sidhu, X. Jiang, and P. I. Dickson. 2015. Intrathecal 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in a single patient with Niemann-Pick C1. *Mol. Genet. Metab.* **116**: 75–79.
66. Talavera, K., J. B. Startek, J. Alvarez-Collazo, B. Boonen, Y. A. Alpizar, A. Sanchez, R. Naert, and B. Nilius. 2020. Mammalian transient receptor potential TRPA1 channels: From structure to disease. *Physiol. Rev.* **100**: 803.

9. Publikációs jegyzék

9.1. Az értekezés alapját képező publikációk

Nehr-Majoros Andrea Kinga, Király Ágnes, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva

Lipid raft disruption as an opportunity for peripheral analgesia

CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY 75 Paper: 102432 , 11 p. (2024)

IF érték: 4,2

Nehr-Majoros Andrea Kinga, Eröstyák János, Fenyvesi Éva, Szabó-Meleg Edina, Szőcs Levente, Sétáló György, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva

Cyclodextrin derivatives decrease Transient Receptor Potential vanilloid 1 and Ankyrin 1 ion channel activation via altering the surrounding membrane microenvironment by cholesterol depletion

FRONTIERS IN CELL AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY 12 Paper: 1334130 , 13 p. (2024)

IF érték: 4,1

Nehr-Majoros Andrea Kinga, Karakai Lajos, Payrits Maja, Bencze Noémi, Kemény Ágnes, Sétáló György, Börzsei Rita, Hetényi Csaba, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva

Cyclodextrins inhibit TRPV1 and TRPA1 activation-induced nociception via cholesterol depletion

JOURNAL OF LIPID RESEARCH 66 : 7 Paper: 100844 , 13 p. (2025)

IF érték: 4,3

9.2. Egyéb eredeti közlemények

Tóth Mónika Ágnes, **Majoros Andrea Kinga**, Vig Andrea Teréz, Migh Ede, Nyitrai Miklós, Mihály József, Bugyi Beáta

Biochemical Activities of the Wiskott-Aldrich Syndrome Homology Region 2 Domains of Sarcomere Length Short.: WH2 domains in sarcomeric actin regulation

JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 291 : 2 pp. 667-680. , 14 p. (2016)

IF érték: 4,125

Zsoldos Bernadett, Nagy Nóra, Donkó-Tóth Viktória, Keglevich Péter, Weber Márton, Dékány Miklós, **Nehr-Majoros Andrea**, Szőke Éva, Helyes Zsuzsanna, Hazai László

Novel Piperazine Derivatives of Vindoline as Anticancer Agents

INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 25 : 14 Paper: 7929 , 13 p. (2024)

IF érték: 4,9

Payrits Maja, Zsidó Balázs Zoltán, **Nehr-Majoros Andrea Kinga**, Börzsei Rita, Helyes Zsuzsanna, Hetényi Csaba, Szőke Éva

Lipid raft disruption inhibits the activation of Transient Receptor Potential Vanilloid 1, but not TRP Melastatin 3 and the voltage-gated L-type calcium channels in sensory neurons

FRONTIERS IN CELL AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY 12 Paper: 1452306 , 14 p. (2024)

IF érték: 4,3

Horváth Ádám, Steib Anita, **Nehr-Majoros Andrea**, Kántás Boglárka, Király Ágnes, Racskó Márk, Tóth Balázs István, Szánti-Pintér Eszter, Kudová Eva, Skoda-Földes Rita, Helyes Zsuzsanna, Szőke Éva

Anti-Nociceptive Effects of Sphingomyelinase and Methyl-Beta-Cyclodextrin in the Icilin-Induced Mouse Pain Model

INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 25 : 9 Paper: 4637 , 13 p. (2024)

IF érték: 4,9

Halmai Mónika, Herr Dominika Mária, Mayer Szabolcs, Keglevich Péter, Abdallah Ejlal A., Bózsity-Faragó Noémi, Zupkó István, **Nehr-Majoros Andrea**, Szőke Éva, Helyes Zsuzsanna, Hazai László

Synthesis and In Vitro Anticancer Evaluation of Novel Phosphonium Derivatives of Chrysin

INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 26 : 22 Paper: 11063 , 15 p. (2025)

IF érték: 4,9

10. Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm témavezetőmnek, Dr. Szőke Évának a magas színvonalú szakmai irányítást és a folyamatos támogatást, mindig hasznos tanácsokat kutatómunkám végzése során. Köszönöm Prof. Dr. Pintér Erikának a Doktori Iskola és a PTE-ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet vezetőjének, hogy lehetőségem volt az Intézetben végezni kutatómunkámat. Szeretném kifejezni köszönetemet Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának, aki lelkesedésével, szakmai felkészültségével szintén több ponton járult hozzá munkám előrehaladásához. Hálás vagyok, hogy az Intézetben a saját kutatási témám mellett lehetőségem volt több projektben is aktívan részt venni, mely nagy mértékben járult hozzá a szakmai fejlődésemhez és ismereteim elmélyítéséhez.

Szeretném megköszönni Dr. Szabó-Meleg Edinának és Ifj. Dr. Sétáló Györgynek a mikroszkópos mérések kivitelezése során, Dr. Erotyák Jánosnak a fluoreszcencia spektroszkópia vizsgálatok során nyújtott segítségét. Köszönöm Dr. Kemény Ágnes közreműködését a kolorimetriás vizsgálatok elvégzésében. Köszönettel tartozom Steib Anitának és Disztl Ceciliának az *in vitro* vizsgálatokban a doktori munka kezdeti szakaszában történő, és azóta is folyamatos közreműködésért. Köszönöm Dr. Király Ágnesnek az összefoglaló közlemény írásában végzett közös munkát. Köszönettel tartozom a CycloLab Ciklodextrin Kutató-Fejlesztő Kft.-nek a CD-származékok szintéziséért, kiemelten Prof. Dr. Fenyvesi Évának, Prof. Dr. Sente Lajosnak és Dr. Szócs Leventének a szakmai konzultációkért.

Köszönöm Dr. Börzsei Rita és Dr. Hetényi Csaba az *in silico* vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségét. Dr. Payrits Majának és Móriczné Dr. Bencze Noéminek szeretném megköszönni, hogy mindig számíthattam a szakmai és baráti segítségükre, támogatásukra, illetve aktív közreműködésükre több *in vivo* kísérlet során. Köszönetet szeretnék mondani Rajnai Tündének az állatok gondozásában nyújtott folyamatos segítségéért, valamint Bagoly Teréznek, Ács Boglárkának és Szabó-Sütő Tündének, akik asszisztensi munkájukkal járultak hozzá a kísérletek sikerességéhez. A PhD-tanulmányaimhoz nyújtott támogatásért köszönettel tartozom a Richter Gedeon Talentum Alapítványnak, továbbá a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal által finanszírozott Új Nemzeti Kiválóság Programnak (ÚNKP) és az Emberi Erőforrások Minisztériuma által támogatott Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Programnak (EKÖP). A felsoroltakon kívül köszönetemet szeretném kifejezni a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet minden munkatársának, akik tapasztalatukkal és tanácsaikkal segítettek a kísérletekben vagy a mindennapi munkában. Végül szeretném megköszönni Családom, főként Édesanyám, Férjem és Gyermekeim folyamatos és szerető támogatását.