

SZENZOROS-IMMUN INTERAKCIÓK SZEREPÉNEK VIZSGÁLATA ÍZÜLETI GYULLADÁS ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLJEIBEN

Doktori (PhD) értekezés tézisei

dr. Borbély Éva

Gyógyszertudományok Doktori Iskola - Neurofarmakológia Program

Programvezető: Prof. Dr. Pintér Erika

Témavezető: Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet



Pécs

2015.

BEVEZETÉS

1. A krónikus ízületi gyulladás előfordulása, jelenlegi kezelési stratégiák

A reumatoid arthritisz (RA) szerteágazó és súlyos klinikai képpel járó betegség, számos vonatkozásban még ma sem teljesen ismert kialakulása és pontos patomechanizmusa. Magyarországon összesen mintegy 70-80 ezer beteg (nők és férfiak aránya 3:1) érintettségével számolhatunk. Az RA egy autoimmun eredetű, krónikus progresszív sokízületi gyulladás (poliarthritisz), mely elsősorban a kéz és a láb kis ízületeit érinti, és az ízületek destrukciója és deformitása révén a betegek fájdalmát, mozgáskorlátozottságát és életminőségük jelentős romlását idézi elő (Jones és mtsai., 2003; Kourilovitch és mtsai., 2014). Gyakorisága, a nem kellőképp megoldott kezelés és a várható élettartamra gyakorolt kedvezőtlen hatásai miatt kiemelkedő jelentőségű népegészségügyi probléma.

Az RA gyógyszeres kezelésében jelenleg tüneti és a betegség progresszióját befolyásoló szereket különböztetünk meg. A tüneteket enyhítő szerek közé tartoznak a nem-szteroid illetve a szteroid típusú gyulladáscsökkentők, melyek alkalmazását súlyos mellékhatásaik korlátozzák. A betegség kezelésében helyet kapnak még a bázisterápiás szerek (disease-modifying antirheumatoid drug; DMARD), melyek a tünetek enyhítése mellett a strukturális károsodás progressziójának lassítására is szolgálnak, azonban ezen szerek is számos mellékhatással bírnak. Ma a legfontosabb biológiai terápiás vonalat a TNF α blokkolása, valamint a B sejtek gátlása jelenti. Fokozott infekcióveszély, elsősorban lappangó tuberkulózis fellángolása lehet a potenciális mellékhatása ezen szereknek, de nem zárható ki hosszabb alkalmazás után a daganatok keletkezésére való fokozott hajlam sem.

2. Kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés, neurogén gyulladás

A primér szenzoros neuronok 40-50%-a a kapszaicin-érzékeny, azaz Vanilloid Receptor 1 (VR1), vagy más néven Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1)-et expresszáló populációba tartozik. A TRPV1 egy ligand-függő nem szelektív kation-csatorna, melynek aktiválódásakor a sejtbe Na⁺- és Ca²⁺-ionok áramlanak be, amelynek következményeként kialakul a fájdalomérzet és szenzoros neuropeptidok szabadulnak fel az idegvégződésekből. A receptor többféle módon, fizikai vagy kémiai ingerekkel aktiválható intra- és extracellulárisan is (43°C feletti hőinger, pH 6 alatti proton-koncentráció, növényi eredetű vanilloidok – reziniferatoxin). Továbbá ismert még számos olyan vegyület, melyek saját receptoraikon hatva érzékenyíteni képesek a TRPV1 receptorokat és ezáltal az idegvégződés ingerelhetőségét megnövelik. Ezen vegyületekről (bradykininek, prosztaglandinok, proteázok,

serotonin) tudjuk, hogy gyulladásos körülmények között igen magas koncentrációkat érnek el és fontos mediátorai a gyulladáskeltő folyamatoknak.

A kapszaicin-érzékeny idegvégződés a klasszikus afferens funkciójukon kívül – melynek során a szenzoros idegvégződés a központi idegrendszer felé idegaktivitást közvetítenek, és létrejön a fájdalomérzet/nocicepció - lokális és szisztémás efferens funkciókkal is rendelkeznek. Antigén, vagy nem-immun gyulladásos provokáció hatására történő aktiváció következtében gyulladás- illetve fájdalomkeltő hatású szenzoros neuropeptidok, tachykininok és calcitonin gén-rokon peptid (CGRP) szabadulnak fel. Ezt a folyamatot nevezzük **neurogén gyulladásnak**, amely tehát az érzőideg-végződés lokális efferens működésének következménye (Jancsó és mtsai., 1967; Holzer, 1988). A neurogén gyulladás jelentős szerepet tölt be számos betegség patomechanizmusában, ilyenek a reumatoid arthritisz, asztma, allergiás rinitisz, konjunktivitisz és dermatitisz, ekcéma, migrén vagy a gyulladásos bélbetegségek (Pintér és mtsai., 2014). Ugyanezen idegvégződésekből felszabaduló szomatosztatin és ópioid peptidok, melyek a vérárammal a test távolabbi részeire is eljuthatnak, gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatással rendelkeznek (Szolcsányi, 1998). A szomatosztatin ezen hatásait saját G_i-proteinhez kapcsolt receptorain keresztül fejtik ki (sst₁-sst₅). Az ízületi tok és a szinóvium is gazdagon innervált kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződésekkel, melyek szerepe megkérdőjelezhetetlen a betegségben, ugyanis RA-ban szenvedő betegek szérumában illetve szinoviális folyadékában is kimutatható volt a megnövekedett gyulladáskeltő, valamint a lecsökkent gyulladásgátló neuropeptid mennyiség.

3. Proteáz-aktivált receptorok

A proteáz-aktivált receptorok (PAR) családja 4 tagból áll: 3 receptor trombin kötésére alkalmas (PAR1, PAR3 és PAR4) és főleg koagulációs folyamatokban vesznek részt, míg a tripszin/hízósejt triptáz főként a PAR2-höz képes kötődni és rajta keresztül hatást kiváltani. A PAR-ok G-proteinhez-kapcsolt receptorok, proteolitikus hasítás útján aktiválódnak, melyet számos proteáz képes kiváltani (Macfarlane és mtsai., 2001; Hollenberg and Compton, 2002). Ezen kívül ismert még, hogy a szerin proteázok fontos szerepet töltenek be gyulladásos (Kanke és mtsai., 2005) és fájdalom folyamatokban (Vergnolle és mtsai., 2001; Coelho és mtsai., 2003). A PAR2 mind lokalizációjában mind pedig funkciójában elkülönül a család többi tagjától. Megtalálható az ízületben (Ferrell és mtsai., 2003; Nakano és mtsai., 2007), valamint a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződésekben is (Steinhoff és mtsai., 2000). Számos új eredmény utal arra, hogy a különböző szervek gyulladásos folyamataiban és a következményes fájdalom kialakulásában a PAR2 agonisták hatásait a TRPV1-en keresztül tudják kifejezni, mivel e folyamatok kapszaicin-deszenzitizációval gátolhatók voltak (Paszczuk

és mtsai., 2008). Ismerve, hogy a PAR2-stimuláció egér térdízületben szinoviális hiperémiát és duzzadást hoz létre (Ferrell és mtsai., 2003), feltételezhető, hogy ezen receptorok szerepet játszanak az ízületi gyulladáshoz vezető megbetegedések patogenezisében.

4. Tachykininek, tachykinin receptorok

A tachykinin családnak 2000-ig 3 jelentős képviselője volt: a P-anyag (SP), a neurokinin A (NKA) és a neurokinin B (NKB), melyeket két tachykinin prekursor gént kódol: a preprotachykinin-A (TAC1) és a preprotachykinin-B (TAC3). 2000-ben klónozták a 3. emlős tachykinin gént (PPT-C/TAC4) egérből. Miután eredetileg a B limfocitákban történő expresszióját írták le, az általa kódolt neuropeptidet egérben hemokinin-1 (HK-1)-nek nevezték el (Zhang és mtsai., 2000). A Tac4 gén által kódolt tachykininek emberben humán HK-1 és endokinin A, B, C és D (EKA-D) néven ismertek (Steinhoff és mtsai., 2014). Az SP és az NKA a központi idegrendszerben és a primer szenzoros neuronokban található, míg az NKB a központi idegrendszerben és a gerincvelőben van jelen (Lundberg, 1996). Ezzel szemben a HK-1 és az endokininnek elsősorban nem-neuronális sejtekben expresszálódnak, génjük centrális és perifériás expressziójának mintázata és mértéke is igen eltérő az SP génjétől (Duffy és mtsai., 2003). Jelenleg 3 tachykinin receptort (tachykinin NK1, NK2, és NK3) ismerünk. Az SP legnagyobb affinitással az NK1 receptorhoz kötődik, az NKA leginkább az NK2 receptorhoz kapcsolódik, míg az NKB-nek fő receptora az NK3. Az egér és patkány HK-1, illetve az emberi EKA és EKB hatásaikat a P-anyaghoz hasonlóan, NK1 receptort preferáló agonistaként fejtik ki. A tachykinin receptoreszalád a közeljövőben újabb taggal is bővíthet, mivel több olyan kísérleti eredmény látott napvilágot, amelyeket nem lehet a 3 jelenleg ismert tachykinin receptor jelenlétével magyarázni (Lau és mtsai., 2001; Page és mtsai., 2003). Ízületi gyulladáshoz vezető kórképekben való vizsgálatukat indokolja, hogy a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződésekben található gyulladáskeltő neuropeptidok jelentős részét a tachykininek teszik ki és gyulladáshoz vezető sejteket aktiváló, értágító és fájdalomkeltő funkciójukra vonatkozóan számtalan irodalmi adat áll rendelkezésünkre (Longmore és mtsai., 1997; Helyes és mtsai., 2004; 2010). Továbbá ismert, hogy RA-s betegek szérumában és a szinoviában (Anichini és mtsai., 1997; Larsson és mtsai., 1991) illetve artritisz állatmodelljeiben (Bileviciute és mtsai., 1993) is emelkedett SP-szerű immunreaktivitást mutattak ki. A HK-1 gyulladáshoz vezető sejtekben való jelentős expressziója valamint az NK1 receptor-preferencia alapján joggal feltételezhetjük, hogy a Tac4-kódolt tachykininek gyulladáshoz vezető folyamatokban és a neuro-immun interakciókban is fontos szerepet töltenek be.

CÉLKITŰZÉSEK

A reumatoid arthritisz terápiájában nem szerepel olyan gyógyszer, amely gátolni tudná a betegség neurogén gyulladáshoz vezető komponensét. Kísérleteinkkel ízületi gyulladás állatkísérletes modelljeiben igyekeztünk a neurogén gyulladás és a neuro-immun interakciók szerepét feltárni, kulcsmechanizmusokat, célmolekulákat azonosítani, és ezzel olyan új hatásmechanizmusú gyógyszerek kifejlesztését megalapozni, amelyek hatékonyak lehetnek a kezelésben és emellett kevesebb mellékhatással bírnak.

Munkám általános célkitűzései ezért a következők voltak:

- I. A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés szerepének komplex vizsgálata az eddig kizárólag immun-mediált patomechanizmusúnak ismert egér szérum-transzfer arthritisz modellben
- II. A TRPV1 receptorok részvételének vizsgálata a PAR2-indukált arthritisz mechanizmusmodelljeiben
- III. A tachykininek és receptoraik szerepének vizsgálata adjuváns-indukált krónikus arthritisz modellben

KÍSÉRLETI MODELLEK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

1. Kísérleti állatok

Kísérleteinkben 20-25 g súlyú, azonos korú hím és nőstény C57BL/6J törzshöz tartozó (vad típusú, WT) egereken, valamint 250-300 g súlyú hím Wistar patkányokon végeztük (Charles-River, Magyarország). PAR2- és CFA-indukált arthritiszben a kontrollként használt C57BL/6J egerekkel azonos korú *Trpv1* génhíányos (*Trpv1*^{-/-}; Jackson Laboratories, Egyesült Államok), illetve *Tac1* (*Tac1*^{-/-}), *Tac4* (*Tac4*^{-/-}) és NK1 receptor génhíányos (*Tacr1*^{-/-}) illetve kettős génhíányos (*Tac1*^{-/-}/*Tac4*^{-/-}) megfelelőit használtuk. Ezen egereket Prof. John Quinn (Liverpool, Zimmer és mtsai., 1998) és Alexandra Berger (Toronto, Berger és mtsai., 2010) bocsátotta rendelkezésünkre, munkacsoportunkkal való kollaboráció keretein belül.

Az állatok tenyésztése és tartása minden esetben a PTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézetének Állatházában történt 24-25°C-on, normál élelemmel és vízzel korlátlanul ellátva.

2. Kísérleti modellek

2.1. K/BxN szérumszintézis

A poliartritiszt KRN és NOD egerek artritisz tüneteit mutató leszármazottaitól gyűjtött szérumszintézis (K/BxN) beadásával váltottuk ki, míg a kontroll állatok a nem-artritiszes alomtestvérektől gyűjtött szérumszintézist (BxN) kaptak i.p. a 0. és 3. napon. A kialakult gyulladást és fájdalmat 2 héten keresztül vizsgáltuk.

2.2. PAR2-aktiváció által kiváltott ízületi gyulladás

Az akut ízületi gyulladást PAR2 agonista térdízületbe illetve talpba történt beadásával váltottuk ki, mely SP és CGRP felszabadulást okoz a kapszaicin-érzékeny idegelemekből és ezáltal gyulladást vált ki. A fájdalmat (hiperalgészia, allodínia) és a gyulladást mértékét a PAR2 agonista beadása után 6 órán keresztül, óránként mértük.

2.3. CFA-indukált artritisz

A krónikus ízületi gyulladást komplett Freund-adjuváns (complete Freund's adjuvant; CFA, 1 mg/ml hővel előlt *Mycobacterium tuberculosis* paraffinolajos szuszpenziója) faroktöbe, valamint intraplantárisan történő adásával váltottuk ki. A szisztémás hatás fokozása érdekében a faroktöbe történő CFA-adást a következő napon megismételtük, ezt a napot tekintettük a kísérlet első napjának. A fájdalmat és duzzadást 21 napon keresztül mértük.

3. Farmakológiai módszerek

3.1. RTX-deszenzibilizáció

Az egerek egy csoportjának a kísérlet előtt resiniferatoxin (RTX, Sigma-Aldrich) emelkedő dózisait (30, 70, 100 µg/kg s.c. 3 egymást követő napon) adtuk, ezzel a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződések testszerte működésképtelenné tettük (deszenzibilizáció) (Szolcsányi, 1990). 14 nappal később a deszenzibilizáció sikerességét kapszaicin (50 µl, 0.1%) szembe cseppentésével ellenőriztük (wiping test).

3.2. PAR2-aktiváció

Az akut ízületi gyulladást PAR2-aktiváló peptid, SLIGRL-NH₂ (Sigma-Aldrich, Magyarország) segítségével váltottuk ki, melyet egerek talpába (s.c injekció formájában, 100 µg/50 µl), illetve egerek (100 µg/50 µl) és patkányok (100 µg/100 µl) térdízületébe adtunk izoflurán anesztézia mellett. A kontroll csoport állatainak talpába/térdébe inaktív peptidet, LRGILS-NH₂-t adtunk az aktív peptiddel megegyező koncentrációban és térfogatban.

Patkányok egy csoportját szelektív TRPV1 antagonistá, SB366791-gyel (50 µg/kg i.p.) kezeltük elő 15 perccel az intraartikuláris SLIGRL-NH₂ injekció, illetve az egyes mérések előtt, a TRPV1 receptorok szerepének vizsgálata érdekében.

4. Vizsgálati módszerek

4.1. Mechanonociceptív küszöb mérése eszteziométerrel

A talp érintési érzékenységét Ugo Basile dinamikus plantáris eszteziométerrel (Olaszország) mértük. A gyulladás hatására létrejövő küszöbcsökkenés mértékét, melyet az egerek vizsgálatánál hiperalgéziának (enyhe fájdalmat kiváltó inger hatására fokozódó fájdalomérzet), míg patkányok esetén allodíniának (alapvetően nem fájdalmas stimulus hatására kialakuló érzékenység-fokozódás) nevezünk, a kísérlet előtt meghatározott kontrollértékekhez viszonyítva, százalékban adtuk meg.

4.2. Mechanonociceptív küszöb mérése analgeziméterrel

Patkányok hátsó lábán a mechanikai hiperalgéziát Ugo Basile analgeziméter segítségével (Olaszország) határoztuk meg (Randall-Sellitto teszt). A hiperalgéziát százalékban fejeztük ki a kontroll értékekhez viszonyítva.

4.3. Spontán súlyeloszlás mérése incapacitance teszterrel

Egerek illetve patkányok hátsó lábaikra való spontán nehézkesedés mértékét a Linton Instrumentation incapacitance teszter (Norfolk, Anglia) nevű készülékével állapítottuk meg. A jobb lábak kezelése után, az erre eső százalékos terheléscsökkenést számoltuk ki. Az így kapott értékeket ábrázoltuk a kiindulási értékekhez viszonyítva.

4.4. Fájdalmas hőküszöb mérése emelkedő hőmérsékletű forró lapon

A talp fájdalmas hőküszöb értékét IITC Life Science emelkedő hőmérsékletű forró lap (increasing temperature hot plate) (Woodland Hills, Egyesült Államok) segítségével határoztuk meg. A gyulladás hatására megváltozott hőküszöb értékeket a kísérlet előtt felvett kontroll értékekhez viszonyítottuk, így megkaptuk a fájdalmas hőküszöb csökkenésének mértékét.

4.5. Lábduzzadás mérése pletizmométerrel

A lábtérfogatot Ugo Basile Plethysmometer (Olaszország) segítségével mértük, amely műszer a közlekedőedények elve alapján működik. A létrejött lábtérfogat változást, azaz ödémát, az artritisz kiváltása előtt mért kontrollértékekhez viszonyítva, százalékban adtuk meg.

4.6. Térdátmérő mérése mikrométerrel

A térdék anteroposterior és mediolaterális átmérőit Mitutoyo digitális mikrométer (Japán) segítségével határoztuk meg. A gyulladás hatására kialakuló térdátmérő-növekedést százalékosan ábrázoltuk a kiindulási értékekhez viszonyítva.

4.7. Ízületi gyulladás megítélése szemikvantitatív pontozással

A mellső és hátsó lábakat is érintő gyulladás esetén a végtagokat az ödéma és a pirosság mértéke alapján szemikvantitatívan pontoztuk 0 és 10 pont között.

4.8. Ízületi funkció megítélése (horizontal wire grid test)

A vizsgálat során az állatok ízületeinek funkcióját monitorozzuk. A kísérleti állatok egy rácson lefelé lógva eltöltött idejét mérjük, maximum 30 másodpercig. A vizsgálat során mért eredményeket összehasonlítva a kísérlet előtti kontroll értékekkel, a funkcióban bekövetkezett változás mértéke meghatározható.

4.9. *In vivo* mieloperoxidáz aktivitás mérés

A luminol (5-Amino-2,3-dihidro-1,4-ftálazindion) biolumineszcencia szoros korrelációt mutat az artritisz során megfigyelhető neutrophil mieloperoxidáz aktivitással, melyet IVIS Lumina II (PerkinElmer, Waltham, Egyesült Államok) készülékkel mértük.

4.10. *In vivo* mátrix-metalloproteináz aktivitás mérés

A mátrix-metalloproteináz (MMP) aktivitás mérése MMPsense680 (PerkinElmer) festék beadása után történt FMT 2000 fluoreszcens molekuláris tomográf rendszer (PerkinElmer) segítségével.

4.11. A periartikuláris csontstruktúra *in vivo* vizsgálata micro-CT segítségével

A tibiotarzális ízületet SkyScan 1176 *in vivo* micro-CT (Bruker, Kontich, Belgium) segítségével vizsgáltuk. Az artritisz hatására a csontstruktúrában bekövetkezett változásokat CT Analyser[®] software használatával elemeztük. A csonttérfogatot (bone volume; BV) μm^3 -ben meghatároztuk és százalékos arányban ábráztuk a teljes ROI térfogathoz (total volume; TV) képest (BV/TV).

4.12. Szöveti vizsgálat

A kísérletek végén, a túlaltatás után, a tibiotarzális ízületeket kimetszettük. A mintákat fixáltuk, dekalcinálás után paraffinba ágyasztuk és mikrotómmal metszettük, végül hematoxilín-eozinnal vagy safraninnal megfestettük. A gyulladás okozta elváltozásokat a kísérletektől független patológus értékelte előre meghatározott paraméterek alapján. A vizsgálat végén a pontszámokat összeadtuk, így kaptuk meg az egyes metszetekhez, és az egyes állatcsoportokhoz tartozó összetett artritisz pontszámot.

4.13. Gyulladásos citokinek koncentrációinak és szomatosztatin-szint meghatározása

A tibiotarzális ízületeket -80°C -on tároltuk a homogenizálásig. A gyulladásos citokinek koncentrációit ELISA módszerrel mértük és pg/g nedves szövet egységben adtuk meg. A szomatosztatin szintet RIA módszerrel határoztuk meg és fmol/g nedves szövet egységben adtuk meg.

4.14. Etikai vonatkozások

Kísérleteink minden esetben megfelelnek az állatkísérletek végzéséről szóló 1998/XXVIII. számú kormányrendelet előírásainak, és igazodnak a fájdalom tanulmányozására létrehozott nemzetközi tanács javaslataihoz. A kísérleti eljárásokat a Pécsi Tudományegyetem

állatkísérletekkel foglalkozó Etikai Bizottsága engedélyezte (engedélyszám: BA 02/2000–2/2012).

4.15. Statisztikai módszerek

A hiperalgéria, allodínia, spontán fájdalom, ödéma, súlyvesztés és ízületi funkcióvesztés eredményeink esetén Bonferroni módosított poszttesztel kiegészített kétutas ANOVA-t, a klinikai súlyossági és a szövettani szemikvantitatív pontszámok esetén Dunn-féle poszttesztel kiegészített Kruskal-Wallis tesztet, míg a micro-CT-vel nyert eredmények esetén Dunett és Tukey poszttesztekkel kiegészített kétutas ANOVA-t alkalmaztunk. A biolumineszcens és -fluoreszcens képalkotás, a gyulladáshoz citokin-koncentrációk és szomatosztatin koncentrációk mérésének eredményeit Student-féle t-tesztel értékeltük. Minden esetben a $p < 0.05$ -t tekintettük szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés fontos szabályozó szerepet játszanak szérumsztransfer artritisz egérmodelljében

Eredmények

1. A deszenzibilizáció súlyosbítja a lábduzzadás mértékét

A pozitív (artritogén) szérumot kapott, nem előkezelt állatok esetén a lábtérfogat 45%-os növekedést ért el hím és nőstény egekben egyaránt, míg ez a deszenzitivált csoport egyedei esetén mindkét nemben 90-95% volt, és a kísérlet során végig szignifikánsan magasabban maradt a nem előkezelt csoporthoz viszonyítva. A nem előkezelt, pozitív szérumot kapott csoport esetén a súlyosság megítélésére szolgáló pontszámok a 2. naptól szignifikáns emelkedést mutattak, majd a 8. napon érték el a maximumot és a kísérlet 1. hetében szignifikánsan nagyobb értékek tartoztak a deszenzibilizált csoport egyedeihez a nem előkezelttekhez viszonyítva.

2. A deszenzibilizáció enyhíti a mechanikai hiperalgéria mértékét a késői fázisban, de nem befolyásolja a fájdalmas hőküszöb-változást

A nem előkezelt csoport egyedeinél a pozitív szérum adása után szignifikáns (45%) csökkenés figyelhető meg a mechanonociceptív küszöbértékekben, mely a kísérlet végéig fennállt mindkét nemben. A deszenzitivált állatok esetében a 10. naptól kezdve a hiperalgéria mértéke hím és nőstény állatokban is szignifikánsan kisebb volt (25%) a nem előkezelttekhez viszonyítva. A fájdalmas hőküszöböt nem befolyásolta jelentősen az artritisz indukciója,

azonban a hőküszöb értékek mindkét nemben szignifikánsan magasabbak voltak az 1. és 5. nap között a deszenzibilizált csoportokban a nem előkezelthez viszonyítva.

3. A deszenzibilizáció nincs hatással a súlyvesztés illetve az ízületi funkcióvesztés mértékére

Az artritisz szisztémás következményeként testsúlycsökkenés volt megfigyelhető a 7. napig mindkét csoportban, majd a testtömeg lassú gyarapodása volt tapasztalható, de a kísérlet végén sem érte el a kezdeti értéket. Az RTX-előkezelte és nem előkezelte csoport egyedei esetén is, a grid tesztben a rácson eltöltött idő folyamatosan csökkent az első hét végéig, majd a 14. napra a visszatért a kiindulási értékekre. A két csoport között nem volt kimutatható eltérés.

4. A deszenzibilizált állatokban magasabb a neutrofil-aktivitás az akut fázisban

Mindkét artritogén szérummal kezelt csoportban jelentős aktivitás-fokozódás volt megfigyelhető a bokaízületben, amely szignifikánsan magasabb volt az RTX-előkezelte állatokban a korai fázisban (2. napon), azonban ez a különbség elhanyagolhatóvá vált a 6. napra.

5. A deszenzibilizált állatokban magasabb a mátrix-metalloproteináz (MMP) aktivitás a korai fázisban

Az MPO-aktivitáshoz hasonlóan a korai fázisban (5. nap) az RTX-előkezelte állatokban szignifikánsan magasabb MMP-aktivitás értékeket mértünk a nem előkezeltekhez képest, ám később (8. nap) ez a különbség már nem volt kimutatható.

6. A deszenzibilizáció befolyásolja az artritisz során kialakuló csontstruktúra változásokat

A specifikus csontfelszín (BV/TV) kezdeti értékei a nőstény állatokban alacsonyabbak voltak a hímekhez viszonyítva illetve a deszenzibilizált nőstény állatok értékei alacsonyabbak a nem előkezelte nőstényekhez viszonyítva. A nem előkezelte állatokban mérsékelten, míg az RTX-előkezelte nőstényekben jelentősen megemelkedik a BV/TV érték az artritisz következményeként. Ez a folyamat a tibiotarzális ízületekben, a tibia és fibula periartikuláris régióiban is megfigyelhető.

7. Az RTX-előkezelés súlyosbítja az ízületi gyulladás szövettani elváltozásait

A negatív szérummal kezelt ízületekben nem találtunk különbséget a nem előkezelte és RTX-előkezelte csoportok között. A nem előkezelte, pozitív szérumot kapott állatokban mérsékelt fokú gyulladást (mononukleáris sejtes akkumuláció, szinoviális megvastagodás), fibroblaszt képződést, valamint kollagén lerakódást figyelhettünk meg, míg a deszenzibilizált állatokban ezek a szövettani elváltozások szignifikánsan nagyobb mértékűek voltak.

8. A tibiotarzális ízületek szomatosztatin koncentrációja alacsonyabb deszenzibilizált állatokban

Az ízületi gyulladás hatására a 10. napra jelentősen megemelkedett a nem előkezelt állatokban az ízületek szomatosztatin koncentrációja ($25,2 \pm 1,5$ -ről $75,5 \pm 3,1$ fmol/mg nedves szövetre), míg az RTX-előkezelt állatokban ez az emelkedés nem volt ilyen jelentős ($62,4 \pm 2,6$ fmol/mg nedves szövet). Így az RTX-előkezelt értékei szignifikánsan kisebbnek bizonyultak a nem előkezeltékhez viszonyítva.

Összefoglalás, megbeszélés, következtetések

Kísérletsorozatunkkal elsőként bizonyítottuk, hogy a kapszaicin-érzékeny érzőidegvégződések fontos és összetett szabályozó szerephez jutnak a szérum-traszfer artritisz egérmodelljében. Bár a funkcionális vizsgálatok során nem találtunk jelentős különbséget a hím és nőstény állatok között, azonban az önkontrollos CT felvételek elemzése során kimutatható volt, hogy a vad típusú nőstény egerek csonttömege az artritisz kiváltása előtt alacsonyabb volt az azonos korú hímekhez viszonyítva. Ezt a jelenséget más kutatócsoportok is leírták, mind rágcsálókban (Cai és mtsai., 2014), mind emberben (Vanderschueren és mtsai., 2014). A nőstény állatokban az RTX előkezelés hatására szignifikánsan kisebb volt a kezdeti csonttömeg, valamint súlyosabb mértékű volt a patológiás csontújdonképződés a nem előkezeltékhez képest, mely tendencia a hímekben nem volt megfigyelhető. Ezt a jelenséget magyarázhatja az androgének esetleges védő funkciója és a nemi hormonok oszteoklaszt/oszteocita/kondrocita metabolizmust befolyásoló hatása (Vanderschueren és mtsai., 2014). A peptidtartalmú idegvégződések/TRP csatornák csontmetabolizmusban betöltött szerepe azonban továbbra sem tisztázott, tekintettel arra, hogy nagyon kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Jól ismert, hogy a szérum-transzfer artritisz modellben, a humán betegséghez hasonlóan, fontos szerephez jut a neutrofil granulociták által termelt MPO. Kísérletünk során megemelkedett MPO- és MMP-aktivitást találtunk a deszenzibilizált állatokban, mely megegyezik azon korábbi kísérleti eredményekkel, melyekben az RTX-előkezelés más gyulladós modellben (LPS-indukálta tüdőgyulladás modell) megnövekedett MPO-szinthez vezetett (Elekes és mtsai., 2007) illetve, hogy a TRPV1 aktivációja csökkent MMP-9-szekrécióval járt (Tauber és mtsai., 2012). Mivel a gyulladás hatására jelentős szomatosztatinszint-emelkedést figyelhettünk meg, és ez a mennyiség szignifikánsan alacsonyabb volt az RTX-előkezelés hatására, ebből és a funkcionális adatokból arra következtethetünk, hogy a szomatosztatinnak fontos gátló szerepe van az ízületi gyulladást kísérő duzzadás kialakulásában. Korábbi, patkányokban leírt eredményeink azt igazolták, hogy az RTX-előkezelés után tapasztalt fokozott gyulladás nem járt együtt fokozott

fájdalomérzettel. Kísérletsorozatunkban azonban, a késői fázisban, miután a kifejezett gyulladási jelek elmúltak, de a mechanikai hiperalgésia még fennállt, az RTX-előkezelte egerekben szignifikánsan kisebb fájdalom volt mérhető. Figyelembe véve tehát, hogy a kísérlet kezdetén az RTX-előkezelte állatokban sokkal jelentősebb gyulladás alakult ki, viszont a fájdalom a kísérlet első 9 napján nem különbözött a két csoportban, feltételezhető, hogy a kapszaicin-érzékeny idegvégződések az egész folyamat során részt vesznek a fájdalom közvetítésében és súlyosításában, azonban a két csoport közötti különbség csak akkor lesz látható, mikor a gyulladás mértéke már mindkét csoportban megegyezik. Továbbá nemrégiben leírták, hogy a K/BxN artritisz késői fázisában, a duzzadás és hiperémia lecsengése után, neuropátiás fájdalom figyelhető meg (Christianson és mtsai., 2010). A fájdalmas hőinger és mechanikai fájdalom közvetítésében a TRPV1 receptorok központi szerepet töltenek be (Sousa-Valente és mtsai., 2014). Ennek megfelelően mi is csökkent fájdalomérzetet tudunk detektálni az RTX-előkezelés hatására (a 10. naptól kezdve), amely alátámasztja azon korábbi irodalmi adatokat, miszerint TRPV1-hez köthető a fájdalom mediálása mind neuropátiás állapotokban (Brito és mtsai., 2014), mind pedig artritiszben (Fernandes és mtsai., 2011). A termális hiperalgésiában talált szignifikáns különbség a nem előkezelte és RTX-előkezelte csoportok között valószínűleg az RTX jól ismert termális hőküszöb-emelő hatásának volt köszönhető (Almási és mtsai., 2003). A kapszaicin-érzékeny érzőidegek működésüknek köszönhetően gátolni képesek az artritisz számos tünetét (ödéma, gyulladási sejt aktiváció és funkció), mely hatást, legalább részben, a felszabaduló szomatosztatin közvetíti, azonban a potenciális gyulladáscsillapító hatás ellenére a késői fájdalomfolyamatok mediálásában is fontos szerepet töltenek be. Következésképpen megállapíthatjuk, hogy a neuropeptid-tartalmú érzőideg-végződések komplex szabályozó szereppel bírnak gyulladási körülmények között, és hatásuk függ a betegség által érintett szövetről és a patomechanizmustól is.

A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 szerepének vizsgálata proteáz-aktivált receptor 2 által kiváltott ízületi gyulladásban és fájdalomban

Eredmények

1. Patkány ízületben a TRPV1 csökkenti a PAR2-aktivációval kiváltott fájdalmat

A PAR2-aktiváló peptid, SLIGRL-NH₂ térdízületbe történő adásakor 12-17%-os mechanikai allodínia volt megfigyelhető, melyet jelentősen csökkentett a TRPV1 antagonistá előkezelés. A mechanikai hiperalgésia sokkal nagyobb mértékűnek bizonyult (35%) a PAR2-aktiváció hatására, de szintén csökkenthető volt TRPV1 antagonistá előkezeléssel. Továbbá, az ízületi

PAR2-aktiváció spontán fájdalom kialakulását eredményezte, mely tünetet a TRPV1 antagonisták csak a 3, 4 és 5 órás időpontokban tudta mérsékelni. Az inaktív peptid beadása sem mechanikai allodíniát vagy hiperalgéziát, sem pedig spontán súlyeloszlás-változást nem okozott.

2. A TRPV1 nem befolyásolta a gyulladási citokin koncentrációkat patkány ízületben

A patkány ízületek TNF α koncentrációja detektálási határ alatt maradt mind az aktív mind az inaktív peptid beadása után 6 órával. Az IL-1 β koncentrációja szignifikánsan megemelkedett a PAR2-aktiváció hatására ($792 \pm 32,6$ pg/g nedves szövet) az inaktív peptidhez képest ($687 \pm 48,4$ pg/g nedves szövet), azonban az SB366791 előkezelés nem csökkentette szignifikánsan az IL-1 β mennyiségét ($709 \pm 45,5$ pg/g nedves szövet).

3. Egér ízületben a TRPV1 szerepet játszik a PAR2-aktivációval kiváltott fájdalom kialakulásában, de a citokin-felszabadulásban nem

A PAR2-aktiváló peptid térdízületbe adásakor 15%-os mechanikai hiperalgézia alakult ki egerekben. A TRPV1 génhányos állatokban a másodlagos hiperalgézia csak a 3. és 4. órában nem volt megfigyelhető. A térdbe adott SLIGRL-NH₂ hatására jelentős spontán súlyeloszlás-változás volt mérhető a vad típusú egerekben, míg a TRPV1 génhányos állatokban az 5. és 6. órában szignifikáns eltérés volt tapasztalható a vad típushoz képest. A TNF α koncentrációja mérési határ alatt maradt mind az aktív mind pedig az inaktív peptid adása után. Az aktív peptid azonban jelentős IL-1 β koncentráció-emelkedést eredményezett (az inaktív peptid által kiváltott citokin-felszabaduláshoz viszonyítva) a vad és a génhányos csoportokban egyaránt, közöttük azonban szignifikáns eltérés nem volt mérhető.

4. A TRPV1-nek nincs hatása az ödéma kialakulására egér térdízületben

Mérsékelt térdátmérő-növekedés volt megfigyelhető a PAR2-agonista hatására, mely végig fennmaradt a kísérlet során, és hasonló volt a TRPV1 génhányos egerek esetében, a két csoport között nem volt szignifikáns különbség.

5. A TRPV1 szerepe az intraplantáris PAR2-aktivációval kiváltott ödémaképződésben egérmodellben

A SLIGRL-NH₂ segítségével kiváltott lábduzzadás jelentős mértékű, 22-26%-os volt a vad típusban, míg ez az érték szignifikánsan kisebb (10%) volt a TRPV1 génhányos hatására, mely különbség a kísérlet végéig fennmaradt.

6. A TRPV1 nincs hatással a gyulladási fájdalom kialakulására és a citokin koncentrációkra

A PAR2-aktiváló peptid talpba történt adásával 15-25%-os primer hiperalgézia és mérsékelt súlyeloszlás-változás volt jellemző WT egerekben. A vad és génhányos egerek között

azonban egyik paraméterben sem találtunk jelentős különbséget. A TNF α koncentrációja mérési határ alatt maradt, míg az IL-1 β jelentősen megemelkedett mindkét csoportban, azonban szignifikáns különbség itt sem volt kimutatható.

Összefoglalás, megbeszélés, következtetések

Jelen eredményeink szolgáltatnak elsőként bizonyítékot arra, hogy a szelektív PAR2-aktiváló peptid, SLIGRL-NH₂ térdízületbe való adása patkányban és egérben is jelentős spontán súlyeloszlás-változást és szekunder mechanikai hiperalgéziát/allodíniát (térdízületi anyagadás után talpon mért mechanonociceptív küszöbcsökkenés) idézett elő. Az ízületi PAR2 aktivációját Ferrell és mtsai. (2003) vizsgálták. Gyulladást, hiperémiát és jól látható gyulladással szövettani elváltozásokat írtak le, kutatócsoportunk ezzel szemben nem talált jelentős ízületi duzzadást a PAR2-aktiváló peptid hatására. Patkányok szelektív TRPV1 antagonistával történt előkezelésével illetve a TRPV1 génhányos egerekkel történt kísérletsorozatok elsőként bizonyították, hogy a TRPV1 receptorok közvetítik a szekunder hiperalgézia/allodínia kialakulását és a spontán súlyeloszlás-változást. Megjegyzendő azonban, hogy míg patkányban a PAR2-aktiváció által kiváltott változások teljes mértékben felfüggeszthetők voltak a TRPV1 antagonista használatával, addig egérben a TRPV1 genetikai hiánya csupán mérsékelni tudta a válaszokat. Ez a különbség magyarázható mind az ízületi TRPV1-közvetítette mechanizmusok fajbéli különbségeivel, mind pedig a receptor hiányát kompenzáló mechanizmusokkal. Továbbá, a fájdalomválaszok eltérő dinamikájuk is voltak a két fajban, a patkányoknál a TRPV1 aktivációja gyorsabban következett be, mint egerek esetében. Mindezek háttérében feltételezhető, hogy a PAR2 receptorok aktivációja a szinoviális sejteken, fibrocitákon, gyulladással és immunsejteken, valamint az érzőidegvégződéseken számos gyulladáskeltő vívőanyag (bradykinin, leukotriének, prosztaglandinok, citokinek, szenzoros neuropeptidek) felszabadulásához vezet, melyek aktiválják/szenzibilizálják a TRPV1 receptort. A talpba adott PAR2-aktiváló peptid egerekben nagymértékű lábduzzadást idézett elő TRPV1-közvetített mechanizmussal, mely hatásért valószínűleg az aktivált idegvégződésből felszabaduló SP és CGRP tehető felelőssé, azonban feltehetőleg nem játszanak szerepet a PAR2 által kiváltott nehézkedés-csökkenésben és primer hiperalgézia (intraplantáris anyagadás hatására kialakuló talpon mért mechanonociceptív küszöbcsökkenés) kialakulásában. Korábbi tanulmányokban a TRPV1 génhányos egerekben csökkent vagy megszűnt a PAR2 által kiváltott hő- és mechanikai hiperalgézia (Amadesi és mtsai., 2004; Dai és mtsai., 2004), azonban kutatócsoportunk ezt a megfigyelést nem tudta megerősíteni. A primer és szekunder hiperalgézia alapvetően más mechanizmussal jön létre. Míg a primer hiperalgézia, különösen hőinger hatására, főként a

primer nociceptív idegvégződések perifériás szenzitizációja útján jön létre, addig a szekunder hiperalgéria a központi idegrendszeri megváltozott feldolgozásnak tulajdonítható (Treede és Magerl, 2000). A szekunder hiperalgéria létrejöttében valószínűleg nem a perifériás idegvégződések kóros válaszkészsége az alapvető, hanem a neuronális transzmisszió megváltozása a gerincvelőben és magasabb agyterületeken (talamusz, szomatoszenzoros kéreg). Számos folyamatot aktiválnak fájdalmas ingerek a gerincvelő hátsó szarvában, melyek fokozott szinaptikus aktivációhoz (centrális szenzitizációhoz) vezetnek. Mégis, az intraartikuláris PAR2-aktiváció által kiváltott szekunder hiperalgéria enyhébb volt, mint az intraplantáris adással indukált primer hiperalgéria. Ennek hátterében esetleg a szinoviális folyadék jelentősebb endopeptidáz aktivitása állhat, mely limitálja a PAR2 által kiváltott válaszokat. Az idegvégződésekre jellemző PAR2-expresszió mellett ismert a receptor jelenléte az ízületek különböző sejttypusain is, mint a szinoviális sejtek, immun- és gyulladásosejtek, beleértve a hízósejteket is. A belőlük felszabaduló gyulladásosejti mediátorok is valószínűleg szerepet játszanak a TRPV1 receptorok aktivációjában/szenzitizációjában (Kelso és mtsai., 2006). Bár a PAR2-aktiváció önmagában nem elég akciós potenciál generálására, azonban ezen receptorok képesek kapcsolatba lépni más receptorokkal és ioncsatornákkal (pl. TRPV4; Grant és mtsai., 2007) és ezáltal depolarizációt előidézni a gerincvelőben (Seeliger és mtsai., 2003; Dai és mtsai., 2004). Mindezek alapján elmondható, hogy a TRPV1 fontos szerepet játszik a PAR2-indukált fájdalom mediálásában, valószínűleg magasabb központi idegrendszeri struktúrák befolyásolása révén.

Tachykininek és tachykinin NK1 receptorok szerepének vizsgálata adjuváns-indukált artritisz egérmodelljében

Eredmények

1. Tachykininek szerepe a CFA-indukált mechanikai hiperalgéria kialakulásában

WT állatokban a CFA-adást követően mechanonociceptív küszöbcsökkenés alakult ki, amely a 11. naptól a kísérlet végéig a szignifikánsan kisebbnek bizonyult a Tac4^{-/-} és a Tacr1^{-/-} csoportokban, míg a Tac1^{-/-} és Tac1^{-/-}/Tac4^{-/-} csoportokban ez a különbség nem volt megfigyelhető.

2. A tachykininek nem játszanak szerepet a CFA-indukált ödéma kialakulásában

A WT csoportban az anyagadás hatására 90%-os lábduzzadás alakult ki a 4. napra, mely a maximumát a 11. napra érte el, azonban egyik vizsgált peptid hiánya sem befolyásolta számottevően az ödéma mértékét.

3. Tachykininek szerepe a CFA-indukált szövettani elváltozásokban

A vad típusú és génhányos törzsek intakt ízületi mintáiban szövettani eltérést nem találtunk. A WT csoportban erőteljes gyulladási reakciók és pannusképződés volt megfigyelhető a szinoviális tér kiszélesedésével, szinoviális hiperpláziával és gyulladási sejtes beszűrődéssel, valamint porcdestrukcióval. A Tac4^{-/-} és Tac1^{-/-}/Tac4^{-/-} csoportokban szignifikánsan kisebb mértékű, míg a Tac1^{-/-} és Tacr1^{-/-} csoportokban a gyulladás súlyosságát tekintve nem volt különbség a WT állatokhoz viszonyítva.

4. Tachykininek szerepe a CFA-indukált ízületi IL-1 β termelésben

A gyulladási citokinek közül az IL-1 β koncentrációját vizsgáltuk. Intakt ízületi homogenizátumokban az IL-1 β koncentrációja mérési határa alatt van. CFA-adás hatására körülbelül 9000pg/g nedves szövet mennyiségű IL-1 β termelés volt detektálható a WT csoportban, míg a Tac4^{-/-} és Tac1^{-/-}/Tac4^{-/-} csoportokban szignifikánsan alacsonyabb volt a gyulladási citokin koncentráció, míg a Tac1^{-/-} és Tacr1^{-/-} egerekben nem volt jelentős különbség a vad típusúhoz viszonyítva.

Összefoglalás, megbeszélés, következtetések

Kutatásunk elsőként bizonyította a hemokinin-1 fájdalomkeltő szerepét a CFA-indukált artritisz késői fázisában, valamint, hogy e peptid fontos szerepet játszik a gyulladási szövettani elváltozások és a citokintermelés szabályozásában. Centrális és perifériás expressziója mellett jól ismert, hogy a HK-1 az ismert tachykinin receptorok közül legnagyobb affinitással és szelektivitással az NK1 receptorhoz kötődik. A HK-1 ebben a tekintetben, valamint szerkezeti és immunológiai vonatkozásaiban is nagymértékű hasonlóságot mutat a SP-hez, ezért évekig azt feltételezték, hogy a két peptid funkciói is megegyeznek, illetve a radioimmunoassay módszerrel végzett kísérletek esetén nem tudjuk, hogy az adott elrendezésben SP vagy HK-1, esetleg mindkettő szintje változik. Mivel azonban a HK-1 hatásai számos kísérleti elrendezésben nem hasonlítottak a SP által kiváltott hatásokhoz, valószínű, hogy e peptid az NK1 receptoron más kötőhellyel rendelkezik, mint az SP, valamint a receptor aktiváció és a beindított jelátviteli kaszkád is különböző lehet (Kurtz és mtsai., 2002). Az eltérő viselkedés magyarázatul szolgálhat továbbá, ahogyan ezt már más munkacsoport néhány éve felvetette (Endo és mtsai., 2006), hogy a tachykinin receptorcsaládnak létezik egy negyedik, eddig még ismeretlen tagja is. Ezek a megállapítások választ adhatnak arra a régóta fennálló kérdésre, hogy az állatkísérletekben fájdalom- és gyulladáscsökkentőként hatékonyan bizonyult NK1 receptor antagonisták, melyeket a SP kötődésének gátlására terveztek, miért nem voltak eredményesek a humán gyógyszervizsgálatok során. Az colitis ulcerosáról nemrégiben írták le, hogy patogenezisében

szerepet tulajdonítanak a HK-1-nek (Liu és mtsai., 2011), a reumatoid artritisz tekintetében azonban ilyen adat még nem áll rendelkezésünkre. Bízató azonban az a terápiás felfogás, miszerint a rituximabbal történő B sejt depléciós kezelés hatékonyan enyhítette az ízületi gyulladással küzdő betegek tüneteit (Chen és mtsai., 2012; Popa és mtsai., 2007). Mivel a B sejtek a HK-1 egyik fontos forrását képezik, megfontolandó, hogy ebben a jótékony hatásban a HK-1 gyulladáskeltő tulajdonságának kiiktatása is szerepet játszik. Az NK1 receptorok fokozott mRNS expressziójáról artritiszes betegek szinóviámában illetve az antagonisták ödéma- és fájdalomcsökkentő valamint porckárosodást enyhítő hatásáról számos állatkísérletes és klinikai adat áll rendelkezésre (Lam és Ng, 2010; Uematsu és mtsai., 2011). Kísérletünkben a gyulladással mechanikai hiperalgészia a 11. naptól szignifikánsan kisebb mértékű volt a $Tac4^{-/-}$ és $Tacr1^{-/-}$ állatokban, míg a többi génhányos csoportban ez nem volt megfigyelhető. Ebből arra következtethetünk, hogy a HK-1 az NK1 receptorokon keresztül aktiválja a szenzoros neuronokat, azonban a perifériás mechanizmusok mellett a gerincvelői centrális szenzitizációnak is szerepe lehet ezekben a folyamatokban. Bár annak pontos magyarázata nem ismert, hogy a NK1 receptor génhány esetén tapasztaltakat miért nem láttuk az SP és NKA együttes hiányakor, azonban több feltételezés is magyarázatul szolgálhat: a) az SP hiperalgésziát vált ki az NK1 receptorokon keresztül, ezt a hatást azonban ellensúlyozza az NKA központi idegrendszeri NK2 receptorokon való hatása (Tauer és mtsai., 2012) illetve b) A HK-1 és az SP azonos receptoron hat (NK1), de különböző a kötődési helyük, affinitásuk vagy intrinszik hatékonyságuk illetve eltérő az aktiválási mechanizmusuk vagy az általuk beindított jelátviteli útvonal. Ha mindkét peptid hiányzik a rendszerből a HK-1 hiányában létrejövő gátlást esetleges intracelluláris molekuláris mechanizmusok ellensúlyozzák. A $Tac4^{-/-}$ állatokban a gyulladással szövettani elváltozások és a citokin-koncentrációk is alacsonyabbak voltak a vad típushoz viszonyítva. Több irodalmi adat is alátámasztja a gyulladással citokinek és a tachykinin rendszer kapcsolatát, például, hogy csökkent SP szint és betegség aktivitás volt megfigyelhető TNF α blokkoló etanercept kezelés után RA-s betegekben (Origuchi és mtsai., 2011). Bár az RA alapvetően egy TNF α -domináns kórkép, más interleukinek is fontos szerephez jutnak a krónikus ízületi károsodásban. Ilyen például az IL-1 β , mely szabályozza az immunválaszt és az oszteoklaszt aktivitást. Azonban a $Tac4^{-/-}$ állatokkal ellentétben, a $Tacr1^{-/-}$ egerekben nem figyelhettük meg a gyulladással paraméterek (szövettani elváltozások, IL-1 β koncentráció) csökkenését. Következésképpen megállapítható, hogy a HK-1 fontos gyulladás- és fájdalomkeltő szerepet játszik krónikus artritisz modellben, és az általa kiváltott hatások háttérben eltérő mechanizmusok valamint egy, még ismeretlen tachykinin receptor jelenléte is feltételezhető.

ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS EGYSÉGES ÉRTELMEZÉSE

- 1. Elsőként bizonyítottuk, hogy kapszaicin-szenzitív peptidtartalmú érzőideg-végződések összetett szabályozó funkcióval rendelkeznek sÉRum-transzfer artritisz egérmodelljében.** A gyulladáshos elváltoshásokat csökkenteni képesek, amely háttérében a belőlük felszabaduló szomatosztatin játszhat szerepet. Emellett azonban fontos szerepet töltenek be a gyulladást kísérő fájdalom kialakulásában és/vagy súlyosbításában, elsősorban a késői fázisban. További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy melyik felszabaduló neuropeptid játszik jelentős szerepet az említett hatások kiváltásában.
- 2. Az ízületi PAR2 aktivációjáról elsőként igazoltuk, hogy jelentős fájdalom kiváltására képes, emellett IL-1 β termelés-fokozódást és lábduzzadást tud előidézni. A PAR2-aktivációval előidézett gyulladás és kísérő fájdalom csökkenthető, illetve bizonyos fájdalomkvalitások megszüntethetők, azonban a citokinszint-változások nem befolyásolhatók a TRPV1 receptorok funkciójának gátlásával/hiányával.** Ezek alapján elmondható, hogy a PAR2-mediált akut ízületi gyulladás és a szekunder mechanikai hiperalgémia közvetítésében fontos szerepet játszanak a TRPV1 receptorok.
- 3. Kísérleteink első alkalommal igazolták, hogy a tachykinin család legújabb tagja, a HK-1 fontos gyulladás- és fájdalomkeltő szereppel bír krónikus ízületi gyulladás egérmodelljében.** Ezen kívül bizonyítottuk, hogy e hatások háttérében különböző receptorális mechanizmusok feltételezhetők: míg a mechanikai hiperalgémia kiváltása NK1 receptor által közvetített módon valósul meg, addig a perifériás gyulladáshos elváltoshások valószínűleg nem. Ez a megfigyelés felveti egy esetleges új, eddig még ismeretlen tachykinin receptor létezését.

Az ideg- és az immunrendszer együttműködése illetve betegségekben betöltött szerepe régóta ismert. A világszerte folyó intenzív kutatás eredményeképpen számos közlemény ismerteti a reumatoid artritisz eddig feltárt patomechanizmusait, melyek között ma már felsorolásra kerül a neuro-immun interakciók jelentősége (McInnes és Schett, 2011). Kísérleteinkkel bizonyítást nyert, hogy mind az idegvégződéshos felszabaduló szomatosztatin, mind az ideg- és immunsejteken található PAR2 és a belőlük felszabaduló HK-1 fontos szerepet tölt be az ízületi gyulladás és a következményes fájdalom szabályozásában. Ezen mediátorok pontos hatásmechanizmusának azonosítása hozzájárulhat új típusú fájdalom- és gyulladáshoscsökkentő gyógyszerek kifejlesztéséhez.

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- Almási R**, Pethö G, Bölskei K, Szolcsányi J (2003). *Br J Pharmacol*. 139: 49-58.
- Amadesi S**, Nie J, Vergnolle N, Cottrell GS, Grady EF, Trevisani M, Manni C, Geppetti P, McRoberts JA, Ennes H, Davis JB, Mayer EA, Bunnett NW (2004). *J Neurosci*. 24: 4300-12.
- Anichini M**, Cesaretti S, Lepori M, Maddali Bongi S, Maresca M, Zoppi M (1997). *Rev Rhum Engl Ed*. 64: 18-21.
- Berger A**, Benveniste P, Corfe SA, Tran AH, Barbara M, Wakeham A, Mak TW, Iscove NN, Paige CJ (2010). *Blood*. 116: 3792-801.
- Bileviciute I**, Lundeberg T, Ekblom A, Theodorsson E (1993). *Neurosci Lett* 153: 37-40.
- Brito R**, Sheth S, Mukherjea D, Rybak LP, Ramkumar V (2014). *Cells*. 3: 517-45.
- Cai A**, Hutchison E, Hudson J, Kawashima Y, Komori N, Singh A, Brush RS, Anderson RE, Sonntag WE, Matsumoto H, Griffin TM (2014). *Osteoarthritis Cartilage*. 22: 1301-9.
- Chen DR**, Cohen PL (2012). *Int J Clin Rheumtol*. 2: 159-166.
- Christianson CA**, Corr M, Firestein GS, Mobargha A, Yaksh TL, Svensson CI (2010). *Pain*. 151: 394-403
- Coelho A-M**, Ossovskaya V, Bunnett NW (2003). *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents*. 1: 61-72.
- Dai Y**, Moriyama T, Higashi T, Togashi K, Kobayashi K, Yamanaka H, Tominaga M, Noguchi K (2004). *J Neurosci*. 24: 4293-9.
- Duffy RA**, Hedrick JA, Randolph G, Morgan CA, Cohan-Williams ME, Vassileva G, Lachowicz JE, Lavery M, Maguire M, Shan LS, Gustafson E, Varty GB (2003). *Neuropharmacology* 45: 242-250.
- Elekes K**, Helyes Z, Németh J, Sándor K, Pozsgai G, Kereskai L, Börzsei R, Pintér E, Szabó A, Szolcsányi J (2007). *Regul Pept*. 141: 44-54.
- Endo D**, Ikeda T, Ishida Y, Yoshioka D, Nishimori T (2006). *Neurosci Lett*. 392: 114-117.
- Fernandes ES**, Russell FA, Spina D, McDougall JJ, Graepel R, Gentry C, Staniland AA, Mountford DM, Keeble JE, Malcangio M, Bevan S, Brain SD (2011). *Arthritis Rheum*. 63: 819-29.
- Ferrell WR**, Lockhart JC, Kelso EB, Dunning L, Plevin R, Meek SE, Smith AJ, Hunter GD, McLean JS, McGarry F, Ramage R, Jiang L, Kanke T, Kawagoe J (2003). *J Clin Invest*. 111: 35-41.
- Grant AD**, Cottrell GS, Amadesi S, Trevisani M, Nicoletti P, Materazzi S, Altier C, Cenac N, Zamponi GW, Bautista-Cruz F, Lopez CB, Joseph EK, Levine JD, Liedtke W, Vanner S, Vergnolle N, Geppetti P, Bunnett NW (2007). *J Physiol*. 578: 715-33.
- Helyes Z**, Elekes K, Sándor K, Szitter I, Kereskai L, Pintér E, Kemény A, Szolcsányi J, McLaughlin L, Vasiliou S, Kipar A, Zimmer A, Hunt SP, Stewart JP, Quinn JP (2010). *Neuropeptides*. 44: 399-406.
- Helyes Zs**, Szabó Á, Németh J, Jakab B, Pintér E, Bánvölgyi Á, Kereskai L, Kéri Gy, Szolcsányi J (2004). *Arthritis Rheum*. 50: 1677-1685.
- Hollenberg MD**, Compton SJ (2002). *Pharmacol Rev*. 54: 203-17.
- Holzer P** (1988). *Neuroscience* 24: 739-768.
- Jancsó N**, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J (1967). *Br J Pharmacol Chemother*. 31: 138-51.
- Jones G**, Halbert J, Crotty M, Shanahan EM, Batterham M, Ahern M (2003). *Rheumatology (Oxford)*. 42: 6-13.
- Kanke T**, Takizawa T, Kabeya M, Kawabata A (2005). *J Pharmacol Sci*. 97: 38-42.
- Kelso EB**, Lockhart JC, Hembrough T, Dunning L, Plevin R, Hollenberg MD, Sommerhoff CP, McLean JS, Ferrell WR (2006). *J Pharmacol Exp Ther*. 316: 1017-24.
- Kourilovitch M**, Galarza-Maldonado C, Ortiz-Prado E (2014). *J Autoimmun*. 48-49: 26-30.
- Kurtz MM**, Wang R, Clements MK, Cascieri MA, Austin CP, Cunningham BR, Chicchi GG, Liu Q (2002). *Gene*. 296: 205-212.

Lam FF, Ng ES (2010). *Br J Pharmacol*. 159: 958-69.

Larsson J, Ekblom A, Henriksson K, Lundeberg T, Theodorsson E (1991). *Scand J Rheumatol* 20: 326–35.

Lau AH, Chow SS, Ng YS (2001). *Eur J Pharmacol*. 414: 295-303.

Liu L, Markus I, Saghire HE, Perera DS, King DW, Burcher E (2011). *Neurogastroenterol Motil*. 23: 475-83

Longmore J, Hill RG, Hargreaves RJ (1997). *Can J Physiol Pharmacol*. 75: 612–621.

Lundberg JM (1996). *Pharmacol Rev*. 48: 113-178.

Macfarlane SR, Seatter MJ, Kanke T, Hunter GD, Plevin R (2001). *Pharmacol Rev*. 53:245–82.

McInnes IB, Schett G (2011). *N Engl J Med*. 365: 2205-19.

Nakano S, Mishiro T, Takahara S, Yokoi H, Hamada D, Yukata K, Takata Y, Goto T, Egawa H, Yasuoka S, Furouchi H, Hirasaka K, Nikawa T, Yasui N (2007). *Clin Rheumatol*. 26: 1284–92.

Origuchi T, Iwamoto N, Kawashiri SY, Fujikawa K, Aramaki T, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Yamasaki S, Ida H, Kawakami A, Ueki Y, Matsuoka N, Nakashima M, Mizokami A, Kawabe Y, Mine M, Fukuda T, Eguchi K (2011). *Mod Rheumatol*. 21: 244-50.

Page NM, Bell NJ, Gardiner SM, Manyonda IT, Brayley KJ, Strange PG, Lowry PJ (2003). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100: 6245-6250.

Paszczuk AF, Quintao NLM, Fernandes ES, Juliano L, Chapman K, Andrade-Gordon P, Campos MM, Vergnolle N, Calixto JB (2008). *Eur J Pharmacol*. 581: 204–15.

Pintér E, Pozsgai G, Hajna Z, Helyes Z, Szolcsányi J (2014). *Br J Clin Pharmacol*. 77: 5-20.

Popa C, Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC (2007). *Rheumatology (Oxford)*. 4: 626-30.

Seeliger S, Derian CK, Vergnolle N, Bunnnett NW, Nawroth R, Schmelz M, Von Der Weid PY, Buddenkotte J, Sunderkötter C, Metz D, Andrade-Gordon P, Harms E, Vestweber D, Luger TA, Steinhoff M (2003). *FASEB J*. 17: 1871–85.

Sousa-Valente J, Andreou AP, Urban L, Nagy I (2014). *Br J Pharmacol*. 171: 2508-27.

Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, Tognetto M, Amadesi S, Ennes HS, Trevisani M, Hollenberg MD, Wallace JL, Caughey GH, Mitchell SE, Williams LM, Geppetti P, Mayer EA, Bunnnett NW (2000). *Nat Med*. 6: 151–8.

Steinhoff MS, von Mentzer B, Geppetti P, Pothoulakis C, Bunnnett NW (2014). *Physiol Rev*. 94: 265-301.

Szolcsányi J, Helyes Zs, Oroszi G, Németh J, Pintér E (1998). *Br J Pharmacol*. 123: 936-942.

Szolcsanyi J, Szallasi A, Szallasi Z, Joo F, Blumberg PM (1990). *J Pharmacol Exp Ther*. 255: 923-8.

Tauber S, Paulsen K, Wolf S, Synwoldt P, Pahl A, Schneider-Stock R, Ullrich O (2012). *PLoS One*. 7: e48272.

Tauer U, Zhao Y, Hunt SP, Culman J (2012). *Neuropharmacology*. 63: 958-65.

Treede R-D, Magerl W (2000). *Prog Brain Res*. 129: 331–41.

Uematsu T, Sakai A, Ito H, Suzuki H (2011). *Eur J Pharmacol*. 668: 163-8.

Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandendput L, Börjesson AE, Ohlsson C (2014). *Endocr Rev*. 9: er20141024.

Vergnolle N, Bunnnett NW, Sharkey KA, Brussee V, Compton SJ, Grady EF, Cirino G, Gerard N, Basbaum AI, Andrade-Gordon P, Hollenberg MD, Wallace JL (2001). *Nat Med*. 7: 821–6.

Zhang Y, Lu L, Furlonger C, Wu GE, Paige CJ (2000). *Nat Immunol*. 1: 392-397.

Zimmer A, Zimmer AM, Baffi J, Usdin T, Reynolds K, König M, Palkovits M, Mezey E (1998). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3: 2630-5.

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapját képező publikációk

Borbély É, Botz B, Bölcskei K, Kenyér T, Kereskai L, Kiss T, Szolcsányi J, Pintér E, Csepregi JZ, Helyes Z (2015). Capsaicin-sensitive sensory nerves exert important anti-inflammatory functions in the serum-transfer mouse model of autoimmune arthritis. *Brain Behav Immun.* 45: 50-9. doi: 10.1016/j.bbi.2014.12.012. (IF: 6,128)

(A közlemény felerészben alapja a jelen munkának)

Helyes Zs., Sándor K., **Borbély É.**, Tékus V., Pintér E., Elekes K., Tóth D.M., Szolcsányi J., J.J. McDougall (2010). Involvement of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 receptors in Protease-Activated Receptor 2-induced joint inflammation and nociception. *Eur J Pain.* 14: 351-8. (IF: 3,819)

Borbély É, Hajna Z, Sándor K, Kereskai L, Tóth I, Pintér E, Nagy P, Szolcsányi J, Quinn J, Zimmer A, Stewart J, Paige C, Berger A, Helyes Z (2013). Role of tachykinin 1 and 4 gene-derived neuropeptides and the neurokinin 1 receptor in adjuvant-induced chronic arthritis of the mouse. *PLoS One.* 8: e61684. doi: 10.1371/journal.pone.0061684. (IF: 3,534)

Az értekezés alapját képező publikációk kumulatív impakt faktora: **13,481**

Független citációk száma: **10**

Egyéb eredeti publikációk

Hajna Z, **Borbély É**, Kemény A, Botz B, Kereskai L, Szolcsányi J, Pintér E, Paige CJ, Berger A, Helyes Z (2015). Hemokinin-1 is an important mediator of endotoxin-induced acute airway inflammation in the mouse. *Peptides.* 64: 1-7 (IF: 2,614)

Borbély É, Scheich B, Helyes Z (2013). Neuropeptides in learning and memory. *Neuropeptides.* 47: 439-50. (IF: 2,546, FC:15)

Tékus V, Hajna Z, **Borbély É**, Markovics A, Bagoly T, Szolcsányi J, Thompson V, Kemény Á, Helyes Z, Goebel A (2014). A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with complex regional pain syndrome. *Pain.* 155: 299-308. (IF: 5,836, FC:3)

Idézhető absztraktok

É Borbély, K Bölcskei, K Békefi, A Berger, C J Paige, J J McDougall, A Mócsai, T Németh, M Kovács, E Pintér, J Szolcsányi, Zs Helyes (2014). Hemokinin-1 is a potent inflammatory and pro-nociceptive peptide in acute and chronic mouse arthritis models. *Acta Physiol.* 211:(s697) pp. 1-61.

Éva Borbély, Bálint Scheich, Alexandra Berger, Christopher J Paige, János Szolcsányi, Erika Pintér, Zsuzsanna Helyes (2014). Regulatory role of hemokinin-1 in chronic restraint stress model of mice *J Mol Neurosci.* 53:((Suppl 1)) pp. S138-S183.

Zsuzsanna Helyes, **Éva Borbély**, Kata Bölcskei, Katinka Békefi, Alexandra Berger, Christopher J Paige, Jason J McDougall, Attila Mócsai, Tamás Németh, Miklós Kovács, Erika Pintér, János Szolcsányi (2014). Hemokinin-1 is a potent inflammatory and pro-nociceptive peptide in acute and chronic mouse arthritis models. *J Mol Neurosci.* 53:((Suppl 1)) pp. S138-S183.

Borbély É, Hajna Zs, Nabi L, Tékus V, László K, Ollmann T, Karádi Z, Lénárd L, Quinn JP, Berger A, Paige CJ, Keeble J, Szolcsányi J, Pintér E, Helyes Zs (2013). Role of hemokinin-1 and NK1 receptors in anxiety, stress and depression-like behaviour in mice. In: Csillag András (szerk.) *XIV. Conference of the Hungarian Neuroscience Society*. 282 p. (ISBN:978-963-88224-2-0)

Borbely E, Hajna Z, Berger A, Sandor K, Toth I, Kereskai L, Pinter E, Szolcsanyi J, Paige CJ, Quinn JP, Zimmer A, Helyes Z (2012). Hemokinin-1 plays an important role in adjuvant-induced joint and lung inflammation of the mouse. *Eur J Clin Invest*. 42:(1) p. 66. 1 p.

Helyes Z, **Borbely E**, Sandor K, Markovics A, Pinter E, Szolcsanyi J, Quinn JP, McDougall JJ (2012). Capsaicin-sensitive sensory nerves, TRPV1 receptors and substance P are differentially involved in mast cell tryptase-induced inflammatory processes in the mouse joint *Eur J Clin Invest*. 42:(1) p. 63. 1 p.

Kemeny A, Boros M, **Borbely E**, Hajna Z, Setalo G, Pinter E, Szolcsanyi J, Helyes Z (2012). Cytokine profiling of inflamed mouse tissues obtained from different in vivo models. *Eur J Clin Invest. J Mol Neurosci*. 48:(1) p. S199. 1 p.

Markovics A, **Borbely E**, Nagy P, Sandor K, Toth I, Kereskai L, Berger A, Paige C, Pinter E, Zimmer A, Szolcsanyi J, Quinn JP, Helyes Z (2012). Role of tachykinins in mouse models of chronic inflammatory and degenerative joint diseases. *J Mol Neurosci*. 48:(1) pp. S198-S199.

Scheich B, Kormos V, Tékus V, Hajna Zs, **Borbély É**, Gaszner B, László K, Lénárd L, Karádi Z, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Zs (2012). A szomatosztatin 4 receptor szerepének vizsgálata funkcionális tesztekkel és C-FOS immunhisztokémiával szorongás és depresszió-szerű viselkedés egérmodelljeiben. In: Dr. Csernoch László (szerk.) *A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa*. p. 175.

Borbély É, Sándor K, Markovics A, Pintér E, Szolcsányi J, Quinn J P, McDougall J J, Helyes Zs (2011). Role of capsaicin-sensitive sensory nerves and techykinins in mast cell tryptase-induced acute arthritis of the mouse. *Acta Physiol*. 202:(Suppl. 684.) p. 16.

Kemény Á, Boros M, **Borbély É**, Hajna Zs, Sétáló Gy, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Zs (2011). Cytokine Profiling in different inflammatory in vivo mice models. *Acta Physiol*. 202:(Suppl. 684) pp. 53-54.

Markovics A, Borbely E, Nagy P, Sándor K, Tóth I, Kereskai L, Berger A, Paige C, Pintér E, Zimmer A, Szolcsányi J, Quinn J P, Helyes Zs (2011). Role of tahykinins in mouse models of chronic inflammatory and degenerative joint diseases. *Acta Physiol*. 202:(Suppl. 684.) pp. 74-75.

Borbély É, Hajna Z, Simon G, Berger A, Paige C, Quinn J, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Z (2011). Investigation of the role of preprotachykinin A and C (TAC1 and 4) gene-derived peptides in anxiety, stress and depression-like behaviour in mice. *Front Neurosci*. p. online.

Hajna Z, **Borbély É**, Quinn JP, Zimmer A, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Z (2011). Role of preprotachykinin A (TAC1) gene-derived peptides and the neurokinin 1 (NK1) receptor in acute nocifensive behaviours and hyperalgesia. *Front Neurosci*. p. online.

Kongresszusi szóbeli előadások jegyzéke

Éva Borbély, Katalin Sándor, István Tóth, László Kereskai, Alexandra Berger, Erika Pintér, János Szolcsányi, John P. Quinn, Christopher J. Paige, Andreas Zimmer, Zsuzsanna Helyes: Role of tachykinin 1 and 4 gene-derived neuropeptides and the neurokinin 1 receptor in adjuvant-induced arthritis of the mouse. *31st Winter Neuropeptide Conference, Liverpool, UK 2011.*

Borbély Éva: A preprotachykinin A és C (TAC1 és TAC4) gén-kódolt neuropeptidek szerepének vizsgálata szorongás, stressz és depresszió-szerű viselkedés egérmodelljeiben. *Korányi Frigyes Szakkollégium XVI. Tudományos Fóruma, Budapest 2011.*

Z Helyes, **É Borbély**, K Sándor, A Markovics, E Pintér, J Szolcsányi, J P Quinn, J J McDougall: Capsaicin-sensitive sensory nerves, TRPV1 receptors and tachykinins play important roles in mast cell tryptase-induced arthritis and hyperalgesia. *17th Scientific Symposium of the Austrian Pharmacological Society, Innsbruck, Austria, 2011.*

Borbély É, Hajna Zs, Berger A, Sándor K, Tóth I, Kereskai L, Pintér E, Szolcsányi J, Paige CJ, Quinn JP, Zimmer A, Helyes Zs: Hemokinin-1 plays an important role in adjuvant-induced joint and lung inflammation of the mouse. *46th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation, Budapest, 2012.*

Helyes Zsuzsanna, Dezső-Tékus Valéria, Hajna Zsófia, **Borbély Éva**, Kormos Viktória, Botz Bálint, Gaszner Balázs, Nagy Péter, Bölcskei Kata, Szolcsányi János: Neuropátiás állapotok állatkísérletes modellezése: szenzoros, motoros és vaszkuláris működések vizsgálati lehetőségei. *Magyar Élettani, Anatómusok, Biofizikai, Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaságok Kongresszusa, Debrecen, 2012.*

Éva Borbély, Zsófia Hajna, Alexandra Berger, Katalin Sándor, István Tóth, László Kereskai, Erika Pintér, János Szolcsányi, Christopher J. Paige, John P. Quinn, Andreas Zimmer, Zsuzsanna Helyes: Role of hemokinin-1 in murine adjuvant-induced joint and lung inflammation. *I. International Doctoral Workshop of Natural Sciences, Pécs 2012.*

Borbély Éva, Botz Bálint, Kiss Tamás, Pintér Erika, Szolcsányi János, Németh Tamás, Mócsai Attila, Helyes Zsuzsanna: A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés szerepének vizsgálata immunarthritis egérmodelljében. *Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. Évi Közös Tudományos Kongresszusa, Budapest, 2013.*

Helyes Zs, **Borbély É**, Botz B, Tékus V, Hajna Zs, Sándor K, Markovics A, Pintér E, Szolcsányi J, Quinn JP, Berger A and McDougall JJ: Role of capsaicin-sensitive afferents and sensory-immune interactions in arthritis. *Neuroinflammation, Prága, Csehország, 2013.*

Helyes Zsuzsanna, **Borbély Éva**, Botz Bálint, Mócsai Attila, Németh Tamás, Kovács Miklós, Kereskai László, Bölcskei Kata, Pintér Erika, Kenyér Tibor, Szolcsányi János: A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés komplex szabályozó szerepe szérum-transzfer arthritis egérmodelljében. *Erdélyi Múzeum-Egyesület Orvos- és Gyógyszerész-Tudományi Szakosztály XXIV. Tudományos Ülésszak, Marosvásárhely, Románia, 2014.*

É. Borbély, K. Bölcskei, K. Békefi, A. Berger, C. J. Paige, J. J. McDougall, A. Mócsai, T. Németh, M. Kovács, E. Pintér, J. Szolcsányi, Zs. Helyes: Hemokinin-1 is a potent inflammatory and pro-nociceptive peptide in acute and chronic mouse arthritis models. *Joint FEPS and the Hungarian Physiological Society; Budapest, 2014.*

Zsuzsanna Helyes, **Éva Borbély**, Kata Bölcskei, Katinka Békefi, Alexandra Berger, Christopher J. Paige, Jason J. McDougall, AttilaMocsai, Tamás Németh, Miklós Kovács, Erika Pintér, János Szolcsányi: Hemokinin-1 is a potent inflammatory and pro-nociceptive peptide in acute and chronic mouse arthritis models. *REGPEP2014, Kyoto, 2014.*

Helyes Zsuzsanna, Scheich Bálint, **Borbély Éva**, Vincze Patrícia, Menghis Awt, Keeble Julie, Szolcsányi János: Krónikus fájdalom és stressz kapcsolatrendszerének komplex vizsgálata egérmodellekben. *A Magyarországi Fájdalom Társaság 2014. évi kongresszusa és a IV. Neurostimulációs Szimpózium a Magyar Neurológiai Társaság részvételével, Pécs, 2014.*

dr. Borbély Éva: A hemokinin-1 fontos szerepet játszik akut és krónikus stressz és depresszió-szerű viselkedésben. *Pécsi Tudományegyetem Idegtudományi Centrum és Szentágotthai János Kutatóközpont PhD és TDK konferencia, Pécs, 2014.*

dr. Borbély Éva: A hemokinin-1 fontos szerepet játszik akut és krónikus stressz és depresszió-szerű viselkedésben. *3. Pécs-Oklahoma Symposium, Pécs, 2014.*

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Helyes Zsuzsannának azt a rengeteg segítséget, megértést és támogatást, amit az itt eltöltött idő alatt, úgy a TDK-s, mint a PhD-s évek során kaptam. Köszönöm, hogy rendkívüli kitartásával és semmihez nem fogható lelkesedésével megmutatta a kutatómunka szépségeit, és hogy nem csak szakmai, de az élet minden területén számíthattam és számíthatok a segítségére.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Pintér Erikának, a doktori iskola vezetőjének és intézetvezetőnknek, hogy mind a kutató- mind az oktató munkámban támogatott.

Köszönettel tartozom Dr. Sándor Katalinnak, akitől a kutatómunka gyakorlati oldalát sajátíthattam el, kivételes szorgalma és precizitása példaértékű volt számomra.

Köszönöm szobatársaimnak, Dr. Hajna Zsófiának és Dr. Tékus Valériának a munkában és még inkább a mindennapokban nyújtott rengeteg segítséget és türelmet, amivel segítették a kutatást és e dolgozat létrejöttét. Köszönettel tartozom Dr. Botz Bálint, Dr. Bölcskei Kata, Dr. Kemény Ágnes és Kiss Tamás kollégáimnak a kísérletek során nyújtott rengeteg segítségért, Kenyér Tibor, Hunyady Ágnes, Békefi Katinka és Tóth István diákköröseimnek pedig a lelkes és szorgalmas munkájukért. Köszönöm Dr. Scheich Bálint és Dr. Szőke Éva kollégáimnak, hogy mindig számíthattam szakmai és baráti segítségükre és támogatásukra. Köszönöm PhD hallgató társaimnak, hogy inspiráló és vidám légkörben végezhettem munkámat.

Köszönetet szeretnék mondani Perkecz Anikónak, aki kiváló minőségű szövettani metszetek készítésével, Szentes Nikolettnek, Ömböli Dórának és Bagoly Teréznek, akik asszisztensi munkájukkal járultak hozzá kísérleteink sikerességéhez, valamint Dr. Kereskai Lászlónak a szövettani metszetek értékeléséért.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Szolcsányi János professzorúrnak aki követendő példát mutatott a kutatói pálya iránti elhivatottságból és lelkesedésből, Dr. Pethő Gábor és Dr. Barthó Loránd professzoroknak pedig, hogy lehetővé tették és támogatták oktatómunkámat.

Köszönöm külföldi kollaborátorainknak, John Quinn professzornak, Jason J. McDougall-nak és Alexandra Berger-nak, hogy rendelkezésünkre bocsátották a génhiányos egértörzsek tenyészpárjait, segítséget nyújtottak a kéziratok megírása során illetve hogy kísérletsorozataink folytatásában is számíthatunk együttműködésükre.

Végül szeretném megköszönni családomnak azt a sok türelmet, önfeláldozó segítséget és támogatást, amely nélkül e dolgozat nem jöhetett volna létre.