

**ÚJ GYULLADÁSCSÖKKENTŐ ÉS FÁJDALOMCSILLAPÍTÓ MECHANIZMUSOK
KLINIKAI ÉS ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATA**

Doktori (PhD) értekezés tézisei



BOROS MELINDA

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Neurofarmakológiai Program

Doktori Iskola Vezető, Program- és Témavezető: Prof. Dr. Pintér Erika

2015

BEVEZETÉS

Kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződés

Az elmúlt 25 évben intézetünkben született számos korábbi munkához hasonlóan, dolgozatomban összefoglalt kutatásaink alapjául is elsősorban Szolcsányi János és Pintér Erika a primér afferensek egy speciális csoportját alkotó kapszaicin-szenzitív afferensekkel kapcsolatos eredményei szolgáltak. A kapszaicin-szenzitív afferensek vékony, mielinhüvelyes A δ - és a mielinhüvely nélküli C-rostokkal rendelkező neuronok. Nevüket a tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) receptort szelektíven aktiváló kapszaicinról (8-metil-N-vanillil-transz-6-nonénamid), a paprika (*Capsicum annuum*) csípős anyagáról kapták (Caterina és mtsai, 1997). Különlegesek, ugyanis hármas funkcióval rendelkeznek. Feladatuk egyrészt ingerlés hatására fájdalomérzet közvetítése a központi idegrendszer felé (**afferens funkció**). Rendelkezik egy **lokális efferens funkcióval**, belőlük lokális, vazodilatációval és plazmafehérje extravazációval járó neurogén gyulladást okozó neuropeptidok (kalcitonin gén rokon peptid, tachikininek: P-anyag/SP, neurokinin A) szabadulnak fel (Szolcsányi, 1984; 1988; Maggi és Meli, 1988; Helyes és mtsai, 2003). Szolcsányi János és Pintér Erika felismerte, hogy a gerincvelői hátsó gyökök antidrómos elektromos izgatásával kiváltott lokális neurogén gyulladás kifejlődése során szisztémásan ható, fájdalomcsillapító és gyulladásgátló neuropeptidok, mint pl. a szomatosztatin (SST) is felszabadulnak a kapszaicin-érzékeny neuronokból. Ez a harmadik, **szisztémás efferens funkció** (Pintér és Szolcsányi, 1988; 1996; Szolcsányi és mtsai, 1998a; 1998b; Helyes és mtsai, 2000; 2004). Feltárták azt is, hogy a nociceptorok olyan alacsony frekvenciájú (0,1 Hz) elektromos ingerlése, amely még nem vált ki fájdalomérzetet képes maximális gyulladásgátló hatást, SST plazmaszint emelkedést létrehozni (Szolcsányi és mtsai, 2004). Ezen eredmények is hozzájárultak új típusú, a szomatosztatin receptorokon ható gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító szerek fejlesztéséhez. A kapszaicin-szenzitív afferensek nem csak a TRPV1, hanem a vele koexpresszálódó tranziens receptor potenciál ankirin 1 (TRPA1) receptoron keresztül is aktiválhatók.

A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) és ankirin 1 (TRPA1) receptorok

A TRPV1 receptor a tranziens receptor potenciál (TRP) receptorcsalád 6 tagú TRPV alcsaládjába tartozik, míg a TRPA1 a TRPA alcsalád egyetlen tagja. A TRPV1 és TRPA1 ioncsatornák molekulaszervezete és eloszlási mintázata is hasonló, koexpresszió jellemző rájuk (Streng és mtsai, 2008). A TRPV1 és TRPA1 polimodális szenzor funkciójú, Ca²⁺ és Na⁺ ionok számára permeábilis, nem szelektív kation csatorna. Nem sorolhatók be sem a klasszikus ligandfüggő, sem a feszültségfüggő ioncsatornák közé, hanem ezek sokféle liganddal is aktiválható, integratív funkciójú termo-, ill. mechanoszenzorok (Szolcsányi, 2008). A TRPV1 növényi eredetű vanilloid struktúrájú és endogén agonistái intracellulárisan (Jordt és Julius, 2002), a protonok extracellulárisan aktiválják a receptort (Jordt és mtsai, 2000). A TRPA1 receptor agonistái főként az N-terminális régióban megtalálható ciszteinek kovalens módosításával nyitják receptort

(Hinman és mtsai, 2006). Aktiválódáskor a sejtbe áramló Na^+ -ionok az akciós potenciál generálásáért, a nocicepció létrejöttéért, a Ca^{2+} -ionok pedig a szenzoros neuropeptidek felszabadulásáért felelnek. Tartós vagy ismételt aktiváció hatására a sejtben felhalmozódó kationok magas koncentrációi elősegítik a receptor defoszforilációját, gátolják a feszültségfüggő Na^+ csatornákat, így az akciós potenciál létrejöttét, valamint a citoplazma és a mitokondrium duzzadását okozzák, amelynek hosszú távú következménye a sejtek energiaforgalmának csökkenése, így az idegvégződés működésképtelenné válik, deszenzibilizálódik (Koplas és mtsai, 1997; Piper és mtsai, 1999; Liu és mtsai, 2001; Dedov és mtsai, 2001; Szolcsányi, 2003).

A kénhidrogén (H_2S) és a kapszaicin-érzékeny érzőideg-végzördések

Egy 2004-ben megjelent közleményben Patacchini és mtsai (2004) közölte, hogy a H_2S aktiválja a kapszaicin-érzékeny peptiderg érzőideg-végzördéseket és belőlük gyulladáskeltő és gyulladásgátló neuropeptideket szabadít fel, így e molekulának fontos szabályozó szerepe lehet a gyulladáshoz vezető folyamatokban, neuro-immun interakciókban. Egy évvel később jelent meg az az eredmény, hogy a NaHS neuropeptid felszabadulást előidéző hatása csökkent az idegvégzördések deszenzitivizációját, ill. a TRPV1 szelektív gátlása után (Trevisani és mtsai, 2005). A NaHS TRPA1 receptort expresszáló CHO sejteken Ca^{2+} választ indukál (Streng és mtsai, 2008). Leírták azt is, hogy a H_2S aktiválja izolált hátsógyöki ganglionsejteken expresszálódó TRPA1 receptorokat. Az okozott intracelluláris Ca^{2+} koncentráció növekedése szelektív TRPA1 antagonistákkal gátlható volt, azonban TRPV1 receptor antagonisták nem befolyásolták a választ (Miyamoto és mtsai, 2011). Érzőidegsejteken a H_2S szelektív antagonistával gátlható Ca^{2+} beáramlást eredményezett. A H_2S -indukálta Ca^{2+} -választ Trpa1 KO egereken nem, de Trpv1 KO egereken ki tudták mutatni (Ogawa és mtsai, 2012). Tehát valószínűbbnek látszik, hogy a H_2S a TRPA1 receptor aktiválásával fejti ki hatását.

A H_2S szerepe a gyulladásban, molekuláris célpontjai

A H_2S kis méretű, diffúzibilis, bőrön keresztül jól felszívódó, színtelen, záptojás szagú gáz. Nem csak mérgező hatása ismert, hanem emlőskben a nitrogén-monoxid (NO) és szén-monoxid (CO) mellett természetesen előforduló neuromodulátor, intra- és intercelluláris jelátvivő (Li és Moore, 2008). *Gyulladáshoz vezető folyamatokban* serkentő és gátló hatását is leírták, ami függ pl. az alkalmazott koncentrációtól és a gyulladás típusától. A H_2S megköti a reaktív oxigénradikálokat, gátlja az endoteliális és leukocita adhéziós faktorok expresszióját, valamint a TNF- α felszabadulását, a neutrofil granulociták kemotaxisát és azurofil granulociták degranulációját, valamint apoptózist indukál ezekben a sejtekben. Glibenklamid (K_{ATP} gátló) premedikáció esetén a leukocitaadhéziót gátló hatása elmaradt (Zanardo és mtsai, 2006). Különböző *molekuláris célpontok*on keresztül fejti ki hatásait. Li és mtsai (2011) áttekintő cikkükben 4 csoportba sorolja ezeket. Képes bizonyos fehérjék módosítására (pl. S-szulfhidráció), mellyel azok funkcióját befolyásolja, enzimeket aktivál, ezzel is fontos jelátviteli funkciót tölt be. A kinázok és

transzkripciós faktorok aktiválásával a gyulladásos folyamatokat és a sejtvédelmet befolyásolja. Metabolikus hatása során gátolja a mitokondriális citokróm-c-oxidáz és ATP termelést. Gátolja az L-típusú Ca^{2+} -csatornákat szívizomsejtekben, a klorid csatornákat patkány szív lizoszómális vezikulumokban; aktiválja a K_{ATP} , ill. a TRPA1 csatornákat.

Szomatosztatin: a fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő neuropeptid

A szomatosztatin gátló hatásait a célsejteken megtalálható, G_i -proteinhez kötött, öt szomatosztatin receptor altípuson (sstr1-5) feje ki (Patel és mtsai, 1995). Fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő hatás az sstr1, sstr2 és sstr4 receptorokhoz köthető (Helyes és mtsai, 2001; Pintér és mtsai, 2002; Szolcsányi és mtsai, 2004; Pintér és mtsai, 2006; Imhof és mtsai, 2011; Shi és mtsai, 2014). A szomatosztatin az idegelemek közül elsősorban a kapszaicin-érzékeny, TRPV1 és TRPA1 receptorokat is expresszáló szenzoros neuronokban szintetizálódik és tárolódik. Munkacsoportunk és más kutatócsoport is bizonyította akut és krónikus kísérleti elrendezésekben a kapszaicin-érzékeny szenzoros neuronokból felszabaduló szomatosztatin szisztémás gyulladáscsökkentő és antinociceptív hatását (Szolcsányi és mtsai, 1998a, b; Thán és mtsai, 2000; Helyes és mtsai, 2000, 2001, 2004; Pintér és mtsai, 2002; Bar és mtsai, 2004; Imhof és mtsai, 2011). Többféle állatkísérletes modellben és különböző fájdalomkórképben kimutatták, hogy a kívülről beadott szomatosztatin csökkenti a fájdalmat és a gyulladást (Chrubasik, 1985; Karalis és mtsai, 1994; Fioravanti és mtsai, 1995; Lembeck és mtsai, 1982; Szolcsányi és mtsai, 1998b). Gyulladáscsökkentő hatásáért felel, hogy megakadályozza a proinflammatorikus neuropeptid (pl.: SP) idegvégződésekből való felszabadulását, ill. azok hatásainak létrejöttét a célsejteken megtalálható gátló receptorain keresztül (ten Bokum és mtsai, 2000). A SST gátolja a gyulladáskeltő mediátorok felszabadulását, így immunregulációs szerepet is betölt (Chowers és mtsai, 2000; Elliot és mtsai, 1999; Helyes és mtsai, 1996; 2004; Szolcsányi és mtsai, 1998a). Csökkenti a B-limfociták IgA, IgM és IgE szekrécióját, gátolja a T-limfociták IL-2, IL-4, IL-10 és interferon- γ termelését, a neutrofil granulociták kemotaxisát, a makrofágok fagocita és a természetes ölüsejtek aktivitását (ten Bokum és mtsai, 2000), továbbá gátolja a limfoid sejtek proliferációját (van Hagen és mtsai, 1994). A SST és receptorai expresszálódnak a fájdalom közvetítő, feldolgozó és szabályozó központi idegrendszeri (cervikális és lumbális gerincvelői hátsó szarv, motoros neuronok a gerincvelő oldalsó szarvában, gerincvelői hátsó gyöki ganglion, hipotalamusz, talamusz, trigeminális érző mag, agykéreg, hippokampusz, striatum) és a perifériás struktúrákban (Kumar, 2009). A SST gátolja a nocicepciót a központi és perifériás neuronok gátlásával (Carlton és mtsai, 2001; Helyes és mtsai, 2000; 2004; Szolcsányi és mtsai, 1998b). Fájdalomcsillapító hatásának molekuláris mechanizmusa még nem teljesen tisztázott. A G_i -proteinhez kötött szomatosztatin receptorok aktivációja K^+ -csatornák nyitásával és a feszültségfüggő Ca^{2+} -csatornák gátlásával (Koch és mtsai, 1988) akciós potenciál generálását, így a nocicepció létrejöttét, valamint neurotranszmitterek felszabadulását akadályozza (Weckbecker és mtsai, 2003).

CÉLKITŰZÉSEK

I. Számos publikáció beszámol a kéntartalmú gyógyvizes fürdőkezelés gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásáról különböző krónikus gyulladással és degeneratív betegség esetén, de a pontos molekuláris hatásmechanizmus nem ismert. Kutatásunk során kéntartalmú gyógyvíz hatását, valamint a tapasztalt gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító folyamatok egy lehetséges magyarázatát vizsgáltuk pikkelysömörös betegekben és egér bőrgyulladás, valamint oszteoarthritisz modell segítségével. Továbbá kíváncsiak voltunk, hogy a TRPA1 milyen szerepet tölt be egér oszteoarthritisz modellben.

II. A lokális kapszaicinoid kezelés alkalmazása krémek, kenőcsök, tapaszok formájában, különböző kapszaicin koncentrációval (0,015-1%, 8%) elterjedt az ízületi gyulladással, kopással állapotokban. Az alacsony koncentrációjú kapszicum tapaszok hatékony, klinikailag releváns, fájdalomcsillapító hatással bírnak szisztémás mellékhatások nélkül krónikus derékfájdalomban. A legtöbb klinikai tanulmány vagy magát a kapszaicint vagy különböző kapszaicinoidokat tartalmazó paprikakivonatot vizsgálja; a gyakorlatban az is előfordul, hogy nem ismert az alkalmazott készítmény pontos hatóanyag-tartalma. Így első lépésben meghatároztuk a vizsgált krém (EMSPOMA®) kapszaicinoid tartalmát. Célunk volt a krémmel végzett lokális kapszaicinoid kezelés hatásának detektálása, valamint a hatás hátterében zajló molekuláris mechanizmusok feltárása degeneratív elváltozások okozta krónikus derékfájdalomban.

III. A termonocicepció mérésére használt hagyományos módszerek többsége állandó intenzitású, küszöb feletti ingerre adott nocifenzív reakció latenciáidejét méri, nem alkalmasak a valódi nociceptív hőküszöb detektálására. Célunk volt a munkacsoportunk által korábban patkány lábára kifejlesztett, termonociceptív küszöb mérésére alkalmas emelkedő hőmérsékletű vízfürdő validálása a fájdalomkutatásban elterjedten alkalmazott egérre. Kísérleteink során vizsgáltuk referencia analgetikumok és pszichoaktív szerek hatását emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel mért fájdalmas hőküszöbre, valamint open field teszttel detektáltuk, hogy az alkalmazott szerek befolyásolják-e a pszichomotoros működést és ezzel a nociceptív teszt validitását. Továbbá kíváncsiak voltunk, hogy tapasztalunk-e valamilyen interakciót opioid és nem opioid analgetikumok egymással vagy pszichoaktív szerekkel együtt történő alkalmazása során az említett vizsgálatok alkalmazásakor.

KÍSÉRLETI MODELLEK, VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

I. A HARKÁNYI KÉNES GYÓGYVÍZ HATÁSÁNAK ÉS HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA PIKKELYSÖMÖRÖS BETEGEKEN ÉS ALLERGIÁS KONTAKT DERMATITISZ, ILL. OSZTEOARTRITISZ ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLJÉBEN, VALAMINT A TRPA1 RECEPTOR SZEREPE OSZTEOARTRITISZ MODELLBEN

Humán vizsgálat

Vizsgálatunkba 19 (10 nő, 9 férfi, életkor: 50-69 év) enyhe, illetve középsúlyos *pikkelysömörben* szenvedő beteget vontunk be. A bevont személyek közül tizennégy fő naponta 2x25 perces 36 °C-os *harkányi gyógyvizes kádfürdőt* kapott, a kontroll csoport (5 fő) 2x25 perces 36 °C-os csapvízben fürdött 21 napon át. Mindkét csoport esetén ún. „gold standard” kezelésként naponta egyszer, rövid kontaktusidejű (15 perc), 0,1% *dithranol* krémes kezelést alkalmaztunk. A bőrtünetek súlyosságát Psoriasis Area and Severity Index (*PASI*, Smith és mtsai, 2009) megadásával jellemeztük a kezelés első napján, a kádfürdő előtt és utolsó napján, a kádfürdő után. A vizsgálatba bevont betegeknél, a fürdőkezelés megkezdése előtt és annak végén, egy pikkelysömörös plakk széli részéből szövetmintát vettünk. Ezt a pszoriázisos plakkot nem kezeltük dithranollal, így az észlelt változások a gyógyvíz hatását tükrözik. A szövetdarabokat 4% vizes formaldehid oldattal fixáltuk. A hematoxin-eozin metszeteken az antigén prezentáló *Langerhans-sejtek* mennyiségét és eloszlását immunhisztokémiai elemzéssel, CD1a antitest (Dako, Dánia) felhasználásával határoztuk meg. A plazma *szomatosztatin-szerű immunreaktivitását* RIA módszerrel mértük a kúra első és utolsó napján, valamint további 7 egészséges önkéntestől (4 nő, 3 férfi, életkor: 25-46 év) levett éhgyomri vérmintákból (Németh és mtsai, 1996). Az adatokat fmol/ml-ben adtuk meg.

Állatkísérletek

Kísérleteinkben 20-25 g-os, nőtény, a bőrgyulladás modellben BALB/c, az oszteoarthritisz kiváltásakor CD1, *Trpa1* génhiányos (KO, -/-) és vad típusú (WT, +/+) egereket alkalmaztunk. Az állatokat a Pécsi Tudományegyetem Központi Állatházában tenyésztettünk és tartottunk 24-25°C-on, patogénmentes körülmények között, normál étellemmel és vízzel *ad libitum* ellátva.

1. A harkányi gyógyvíz hatásának vizsgálata egér allergiás kontakt dermatitisz modellben

Az *allergiás kontakt dermatitist* *oxazolonnal* váltottuk ki kutatócsoportunk által kidolgozott metodika (Bánvölgyi és mtsai, 2005) egér lábra való alkalmazásával. Az egerek naponta 20 perces *harkányi gyógyvizes*, a kontroll csoport csapvizes vagy desztillált vizes fürdőkezelést kapott. A víz hőmérséklete 37 °C volt. A lábon kialakult *ödéma* mértékét *pletizmométerrel* (Ugo Basile, Olaszó.) detektáltuk a gyulladás kiváltása előtt, valamint a gyulladás kiváltása után 4, 8, 24 és 48 óra elteltével. A mérési adatokat a kezdeti értékekhez viszonyítottuk és a kialakult ödémát százalékban fejeztük ki. A kimetszett és homogenizált bőrmintákból *neutrofil granulociták* *akkumulációjának mértékét* a minták *mieloperoxidáz* *enzim aktivitásából* számoltuk, *ELISA* módszerrel (R&D Systems) *TNF- α* mennyiségét mértük. A *hematoxin-eozinnal festett metszeteken* független patológus bevonásával *szemikvantitatív* *pontozást* végeztünk.

2. A harkányi gyógyvíz hatásának, valamint a TRPA1 receptor szerepének vizsgálata egér oszteoarthritisz modellben

Oszteoarthritisz modellünkben egyik oldali térdízületbe 20 µl, 25 mg/ml *monojód-acetát* oldatot injektáltunk ketamin-xylazin (100 mg/kg ip., Richter, Hungary; 5 mg/kg ip., Lavet, Hungary; (van der Kraan és mtsai, 1989; Harvey és Dickenson, 2009) altatásban. Az egerek egy csoportját 37°C-os *harkányi gyógyvízben*, a kontroll csoportot 37°C-os desztillált vízben fürdettük naponta 20 percig. A *térdátmérőt digitális mikrométerrel* (Mitutoyo, Japán) határoztuk meg milliméterben anteroposterior és mediolaterális irányokban. A *mechanonociceptív küszöb mérése dinamikus plantáris eszteziométerrel* (7140 modell, Ugo Basile, Olaszó.) történt. Az adatokat a kezdeti értékekhez viszonyítottuk és százalékban fejeztük ki. A *hátsó végtagok terhelését incapacitance tester* (Linton Instrumentation, Norfolk, Egyesült Királyság) segítségével mértük. A MIA-val kezelt lábra eső terhelés százalékos értékét a következő képlet alapján adtuk meg: [MIA-val kezelt láb súlya/(ellenoldali láb súlya + MIA-val kezelt láb súlya)] x 100. A 22. napon cervikális diszlokációt követően a térdízületet kimetszettük. A hematoxilinnal és eozinnal festett metszetek *szövettani pontozásával* ítéltük meg az erózió és a nekrozis kiterjedtségét, a porcréteg és a szinóvium elváltozásait. Az egyes metszetek esetén összesített pontszámok átlaga adta a végső adatot.

3. A szomatosztatin plazmakoncentrációjának meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával összekapcsolt lágyionizációs elektroporlasztásos tandem tömegspektrométerrel (nanoHPLC-ESI-Q-TOF-MS) NaHS-oldatos fürdőkezelést követően

Az egerek (20-25 g-os, vegyes nemű, CD1, n=6) egy csoportját a kísérletek ideje alatt 37°C-os, a harkányi gyógyvízzel azonos kéntartalmú (12 mg/l) H₂S donor *NaHS-oldatban* (Sigma-Aldrich), a kontroll csoportot 37°C-os desztillált vízben fürdettük naponta 20 percig, két héten át. A 15. napon altatásban, a SST gasztrointesztinális felszabadulásának elkerülése miatt éheztetett egereken elvégzett szívpunkcióval vettük le a vérmintákat. A plazmából a *szomatosztatin* elválasztása és mennyiségének meghatározása *nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával összekapcsolt lágyionizációs elektroporlasztásos tandem tömegspektrométerrel* történt, amely alkalmas kis térfogatú plazmából nagy pontossággal és megbízhatósággal kimutatni az általunk vizsgált neuropeptidet.

II. A LOKÁLIS KAPSAICINOID KEZELÉS HATÁSÁNAK ÉS HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA KRÓNIKUS DERÉKFÁJDALOMBAN

EMSPOMA® krém kapszaicinoid tartalmának meghatározása nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia-tandem tömegspektrometriás (HPLC-MS/MS) méréssel

Az EMSPOMA® krém kapszaicinoid tartalmának kivonását, kvalitatív és kvantitatív elemzését HPLC-MS/MS módszerrel, Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF LC/MS készülékkel végeztük, Kaale és munkatársai (2002) által kidolgozott, validált extrakciós eljárás és kromatográfias módszer alapján.

Humán vizsgálat

Húsz (10 nő, 10 férfi, 47-75 éves), 12 hétnél hosszabb ideje *krónikus derékfájdalomban* (7 fő discopathia lumbalis, 7 fő spondylosis lumbalis, 6 fő post-laminectomiás szindróma) szenvedő beteget vontunk be a vizsgálatba. A feltételeknek megfelelő pácienseket a Zsigmondy Vilmos Harkány Gyógyfürdő Kórház reumatológusa válogatta be a bent fekvő betegek közül. A kísérlet teljes ideje alatt a vizsgálatokat ugyanaz a reumatológus végezte. A betegek 21 napon át 30 perces *lokális nonivamid* (0,01%, Emspoma® krém, Jutta, Csehország) *kezelést* kaptak a gerinc lumbális régióján 25x40 cm-es területen (1 µg/cm²). A fájdalom mindennapi életre kifejtett hatását az *Oswestry Disability Index* (ODI) segítségével detektáltuk a tanulmány első és utolsó napján. A 10 kérdésre 0-4, ill. 0-5 pont adható. Az adatokat az összpontszám százalékában adtuk meg. A fájdalom mértékének megállapítására négy féle, 100 mm-es *vizuális analóg skálát* (VAS) használtunk az 1., 7., 14. és 21. napokon (Kulisich és mtsai, 2009): VAS I: nyugalmi derékfájdalom a beteg megítélése alapján; VAS II: terhelésre jelentkező derékfájdalom a beteg megítélése alapján; VAS III: a beteg egészségi állapota a beteg megítélése alapján; VAS IV: a beteg egészségi állapota az orvos megítélése alapján. Az adatokat mm-ben fejeztük ki. A lumbális gerinc mozgékonyágát a *Schober- (előrehajlás) és Domján- (bal és jobb oldalra hajlás) tesztek* segítségével határoztuk meg az 1., 7., 14. és 21. napokon (Domján és mtsai, 1990). Az adatokat mindkét esetben cm-ben fejeztük ki. A *plazma szomatosztatin-szerű immunreaktivitását RIA módszerrel* mértük a terápia első és utolsó napján a nonivamid kezelés előtt és után éhgyomri vérmintákból (Németh és mtsai, 1996). Az adatokat fmol/ml-ben adtuk meg.

III. REFERENCIA ANALGETIKUMOK ÉS PSZICHOAKTÍV SZEREK HATÁSA EMELKEDŐ HŐMÉRSÉKLETŰ VÍZFÜRDŐVEL MÉRT FÁJDALMAS HŐKÜSZÖBRE EGÉR BEN

Kísérleteinkben 25-35 g-os, nőstény CD1 egereket alkalmaztunk (n=8-20), amelyeket a Pécsi Tudományegyetem Központi Állatházában tenyésztettünk és tartottunk 24-25°C-on, patogénmentes körülmények között, normál étellel és vízzel *ad libitum* ellátva.

Kísérleteink során az *egerek farkát a vízfürdőbe* (Experimetria Kft., Budapest) merítettük. A víz melegítését 40 °C-ról kezdtük 24 °C/min-es sebességgel fűtöttük fel. A maximális, „cut off” hőmérséklet 53 °C volt. A fájdalmas hőküszöböt annál a hőmérsékletnél határoztuk meg, ahol az állat kiemelte vagy megrázta a farkát. A csoport felét kezeltük a vizsgált szerrel (morfin, diklofenak, metamizol, diazepam, droperidol), a másik fele azonos térfogatú oldószert (fizsó) kapott (10 ml/testömegkilogramm, ip.). A hőküszöböt 30 perccel a kezelés után mértük. Minden gyógyszer hatásának a vizsgálata a gyógyszeradás előtti és utáni küszöbérték összehasonlításával történt. A gyógyszeradást követően 60 perccel a hőküszöb mérésen átesett állatok *motoros aktivitását az open field tesztrel* vizsgáltuk. A lokomóciót (érintett mezők száma, mozgás ideje), ágaskodások számát, mosakodással töltött időt mértük. Minden alkalmazott szer hatását a fizsót kapott kontrollhoz viszonyítva határoztuk meg minden vizsgált

aktivitás esetén a százalékos gátlás megadásával, melyet a következő képlettel számoltuk: 100- (gyógyszerrel kezelt állat esetén mért érték/fiziológiás sóoldattal kezelt állat esetén mért érték).

Statisztika

Az eredményeket átlag \pm SEM formában adtuk meg. PASI esetén a kezelés előtti és utáni adatok csoporton belül nemparametrikus Wilcoxon-teszttel, csoportok között páratlan t-próbával hasonlítottuk össze. A lábvolumen adatoknál a harkányi gyógyvízzel kezelt és a kontroll csoport közötti, a térdátmérő, a mechanonoczeptív küszöb és a spontán súlyeloszlás adatoknál az egyes csoportok közötti összehasonlítást ANOVA varianciaanalízis segítségével végeztük és Dunnett-féle poszt tesztet alkalmaztunk. A SST-IR, a neutrofil akkumuláció és citokin koncentráció meghatározása esetén az adatokat páros t-próbával elemeztük csoporton belüli, páratlan t-próbával csoportok közötti összehasonlítás során. A szemikvantitatív pontozás eredményeit nemparametrikus Mann-Whitney teszttel értékeltük. Páratlan t-próbát alkalmaztunk a desztillált vízben és a NaHS-oldatban fürdetett csoport plazma SST koncentrációjának összehasonlítására. Az adatok statisztikai értékelése az ODI, Schober- és Domján-jel esetén Student-féle t-próbával, a VAS esetén Friedman- és Dunn-féle post-hoc teszttel, a SST-IR értékeknél Kruskal-Wallis és Dunn-féle post-hoc teszttel történt. Az emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel mért gyógyszeradás előtti és utáni hőküszöb értékeket Wilcoxon-próbával hasonlítottuk össze. A pszichomotoros aktivitás esetén a gyógyszeres és fiziológiás sóoldattal kezelt csoport eredményeit Student-féle t-teszttel elemeztük. Az elemzéseket a GraphPad Prism szoftverrel végeztük. Minden esetben * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ és *** $p < 0,001$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

Etikai vonatkozások

A klinikai vizsgálatok megkezdésekor a páciensek szóbeli és írásbeli tájékoztatót kaptak a kutatás céljára és a kezelésekre vonatkozóan. A beleegyező nyilatkozatot aláírásukkal hitelesítették. A kutatás a Pécsi Tudományegyetem, valamint a Regionális Kutatások Etikai Bizottságának engedélyezése után valósult meg (engedélyszám: 3787.316-5960/KK4/2010). Kísérleteink minden esetben megfeleltek az állatkísérletek végzéséről szóló 243/1998. számú kormányrendelet előírásainak, és igazodnak a fájdalom tanulmányozására létrehozott nemzetközi szervezet javaslataihoz (Zimmermann, 1983). A kísérleti eljárásokat a Pécsi Tudományegyetem állatkísérletekkel foglalkozó Etikai Bizottsága engedélyezte (engedélyszám: BA 02/2000-11-2006; BA 02/2000-2/2012).

EREDMÉNYEK, KÖVETKEZTETÉSEK

I. A HARKÁNYI KÉNES GYÓGYVÍZ HATÁSÁNAK ÉS HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA PIKKELYSÖMÖRÖS BETEGEKEN ÉS ALLERGIÁS KONTAKT DERMATITISZ, ILL. OSZTEOARTRITISZ ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLJÉBEN, VALAMINT A TRPA1 RECEPTOR SZEREPE OSZTEOARTRITISZ MODELLBEN

Humán vizsgálat

A bőrtünetek súlyosságát jelző PASI átlagértéke nem változott szignifikánsan a 21 napos csapvizes fürdőkezelés és a pikkelysömörös plakkokon alkalmazott dithranol hatására. A harkányi gyógyvizes és dithranolos kúra szignifikánsan mérsékelte a bőrtünetek súlyosságát, a PASI 7,74±1,60 értékről 3,81±1,02 értékre csökkent a kúra végére. Pikkelysömörös betegek plazmájában a kúra megkezdése előtt, egészséges önkéntesek SST-IR értékéhez (10,07±0,61 fmol/ml) képest szignifikánsan magasabb értékeket mértünk (16,89±1,31 fmol/ml). A 21 napos gyógyvizes fürdőkezelés hatására a SST-IR megemelkedett (21,26±2,09 fmol/ml), azonban a kontroll csoportban nem változott. A pikkelysömörös betegektől származó metszeteken megvastagodott epidermiszt, leukocita beszűrődést és az antigén-prezentáló Langerhans-sejtek dermális populációját figyelhettük meg a gyógyvizes kezelés előtt. Balneoterápia csökkentette az akkumulálódott leukociták és a Langerhans-sejtek számát a dermiszben.

Állatkísérletek

1. A harkányi gyógyvíz hatása egér allergiás kontakt dermatitisz modellben

A oxazon hatására kialakult ödéma mértékében a kontroll csoportban alkalmazott desztillált vizes és csapvizes kezelés között nem volt szignifikáns különbség. A lábduzzadás jelentősen csökkent (20,4±3,07-25,26±2,81%) a harkányi gyógyvizes fürdő hatására. A gyógyvizes fürdőkezelés nem csökkentette a megemelkedett MPO szintet. A TNF- α mennyisége sem változott a kéntartalmú fürdő hatására. A szemikvantitatív pontozás alapján a harkányi gyógyvíz nem befolyásolta a hisztopatológiai változásokat.

2.a A harkányi gyógyvíz hatása egér oszteoarthritisz modellben

MIA injekció után kialakult ízületi duzzadásra a fürdőkezelés nem gyakorolt szignifikáns hatást. Bár a mérési napok többségénél alacsonyabb volt a hiperalgézia mértéke a harkányi vizes csoportban, azonban a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. A gyulladt láb jelentősen kisebb mértékű terheléscsökkenését figyelhettük meg a kéntartalmú fürdő hatására a 2. és a 9. nap közötti mérési napokon. A szövettani metszetek szemikvantitatív értékelésekor a porcréteg mérsékeltebb rendezetlensége, valamint a kisebb fokú szinoviális hiperplázia és az enyhébb gyulladás miatt a gyógyvízzel kezelt csoportban a kontrollhoz képest enyhébb mértékű ízületi károsodást detektáltunk.

2.b A TRPA1 receptor szerepe egér oszteoarthritisz modellben

A MIA injekció után 3 órával mért mediolaterális térdátmérő volt szignifikánsan alacsonyabb a KO állatokban. A Trpa1 génhányos csoportban a 3-11. nap között kisebb mértékű volt a küszöbcsökkenés WT állatokhoz képest, ez csak a 4. és a 9. napon bizonyult szignifikánsnak. A

gyulladt láb jelentősen kisebb mértékű terheléscsökkenését figyelhettük meg a 3., 7. és 11. napon a KO csoportban. A szemikvantitatív értékelés során kalkulált hisztopatológiai pontszám $11,14 \pm 1,07$ volt a WT és $10,94 \pm 0,8$ a KO csoportban.

3. A szomatosztatin plazmakoncentrációjának változása NaHS-oldatos fürdőkezelést követően

A NaHS-oldatos fürdőkezelés hatására megemelkedett a plazma SST koncentrációja. A desztillált vízben fürdetett egerek esetén ez az érték $24,12 \pm 0,58$ fmol/ml volt, a NaHS-oldatos csoportban pedig $29,13 \pm 1,76$ fmol/ml.

A kénes gyógyvizekkel végzett balneoterápia gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásainak molekuláris mechanizmusára találtunk egy lehetséges magyarázatot humán és állatkísérletes vizsgálatok során. Eredményeink bizonyítják, hogy a kénes gyógyvizek H₂S tartalma szignifikánsan megemeli a plazma SST koncentrációját. Mivel a SST egy jól ismert, antiinflammatorikus és analgetikus neuropeptid, amely hat a gyulladás vaszkuláris fázisára és a gyulladással és immunsejtek funkcióira, valamint a nocicepcióra (Pintér és mtsai, 2006), feltételezhető, hogy szerepet játszik a kénes gyógyvizek gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító mechanizmusában. Mivel a 37 °C-os csap- vagy desztillált vizes kezelés nem befolyásolta a gyulladással járó tüneteket, így arra jutottunk, hogy a gyógyvíz gyulladáscsökkentő tulajdonságáért elsősorban a kémiai komponensek felelősek, a termális hatásokat kizárhatjuk. Adataink alapján kijelenthetjük, hogy a SST a gyulladás vaszkuláris és celluláris fázisára, ill. a nocicepcióra kifejtett gátló hatásával szerepet játszik a pikkelysömörös, az allergiás kontakt dermatitist, valamint az oszteoartritist kísérő tünetek javulásában. Továbbá elmondhatjuk, hogy a TRPA1 receptor a nociceptív ingerek közvetítésével szerepet játszik a MIA-indukálta oszteoarthritisz patomechanizmusában.

II. A LOKÁLIS KAPSAICINOID KEZELÉS HATÁSÁNAK ÉS HATÁSMECHANIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA KRÓNIKUS DERÉKFÁJDALOMBAN

EMSPOMA® krém kapszaicinoid tartalmának meghatározása

A krémekben egyetlen azonosított kapszaicinoid molekula a nonivamid, teljes mennyisége $95,9 \text{ ppm} \pm 1,65 \%$ RSD (0,00959 %).

Humán vizsgálat

Eredményeink azt mutatják, hogy az ODI szignifikánsan csökkent a 21. napon $39 \pm 3,9 \%$ -ról $32,5 \pm 4,4 \%$ -ra. Mind a négy VAS skálával mért paraméter jelentősen javult a 3 hetes terápia alatt. A nyugalmi derékfájdalom mértéke (VAS I) a 21. napon $37,29 \%$ -os, a terhelésre jelentkező derékfájdalom (VAS II) $59,49 \%$ -os csökkenést mutatott. Figyelemre méltó, hogy a páciensek egészségi állapotának javulása már az első hét végén jelentkezett akár a beteg (VAS III), akár az orvos (VAS IV) megítélése alapján vizsgáltuk (VAS III: 1. napon $61,25 \pm 4,68$ mm; 7. napon $43,05 \pm 4,70$ mm, $-29,71 \%$; 21. napon $24,8 \pm 5,49$ mm, $-59,51 \%$; VAS IV: 1. napon $53,25 \pm 3,08$

mm; 7. napon $44,35 \pm 3,77$ mm, $-16,71$ %; 21. napon $21,6 \pm 4,62$ mm, $-59,44$ %). A lumbális gerinc Schober- (előrehajlás) és Domján- (bal és jobb oldalra hajlás) tesztekkel jellemzett mozgékonyágában nem találtunk szignifikáns változást.

A plazma SST-IR értéke több, mint háromszorosára emelkedett az első napon a lokális nonivamid kezelés hatására ($16,8 \pm 3,1$ fmol/ml-ről $56,9 \pm 7,7$ fmol/ml-re). Az utolsó napon levett vérminták esetén nem tudtuk kimutatni ezt a jelentős különbséget, de a SST-IR értéke a nonivamid kezelés előtt ($19,5 \pm 2,17$ fmol/ml) magasabb volt az egészséges önkéntesekben mért értékhez képest ($10,07 \pm 0,61$ fmol/ml).

A lokális kapszaicinoid terápia fájdalomcsillapítóként való alkalmazása gyulladással és degeneratív betegségekben a XIX. sz.-tól vált széleskörűvé, azonban molekuláris hatásmechanizmusa a mai napig nem ismert. A nonivamid antinociceptív hatását állatkísérletekben bizonyították (Skofitsch és mtsai, 1984; Kawamura és mtsai, 1993; Walpole és mtsai, 1993). Klinikai vizsgálatban elsőként bizonyítottuk, hogy derékfájdalomban a 21 napos lokális nonivamid kezelés fájdalomcsillapító hatású és akut SST-IR emelkedést eredményez a plazmában. A kapszaicin-érzékeny érzőideg-végződésekből az antiinflammatorikus és antinociceptív SST nagy mennyiségben ürül és a keringésbe jutva fejt ki szisztémás fájdalomcsillapító hatását (Szolcsányi és mtsai, 1998a; 1998b). Az idegvégződések nonivamiddal történő ismételt ingerlés hatására depletálódnak és így a neurális SST ürülése megszűnik a három hetes terápia végére. A mai napig azt tartják a klinikai gyakorlatban, hogy az egyszeri magas vagy az ismételt alacsony koncentrációjú TRPV1 agonista kapszaicin tartalmú készítmények alkalmazása a kapszaicin-érzékeny peptiderg idegvégződések deszenzitizációjához vezet. Így az idegvégződések nociceptor funkciója és ezzel együtt a SP felszabadulás is -amely folyamatot a fájdalom neurotranszmissziójában kulcsfontosságú jelnek tartanak- károsul bizonyos ideig (Bley, 2010; Kaale és mtsai, 2002). Azonban számos klinikai tanulmány bizonyította, hogy a SP receptor antagonisták nem rendelkeztek fájdalomcsillapító hatással (Hill, 2000). *In vitro* mérések alapján a nonivamid a kapszaicinnal ekvipotens TRPV1 receptor agonista (Weiser és mtsai, 2013). Hidrofilebb tulajdonságú kapszaicinoid (Tsai és mtsai, 1994), így még kevésbé képes a bőrben való eloszlásra (Fang és mtsai, 1996). A mélyebben található ízületekben keletkező fájdalomcsillapító hatás nem magyarázható a bőrben található afferensek deszenzitizációjával (Anand és Bley, 2011). A bőr afferenseiből nonivamid hatására felszabaduló endogén SST a keringésbe kerülve képes elérni az ízületekben található neuronok által expresszált receptorait és az érzőidegek nociceptor funkciójának gátlásával analgetikus hatást vált ki. Továbbá a SST gátolja a fájdalomkeltő mediátorok, mint a proinflammatorikus neuropeptidek, citokinek, prosztaglandinok és reaktív oxigénradikálok gyulladással sejtekből történő felszabadulását (Pintér és mtsai, 2006). A perifériás folyamatok mellett a SST centrális analgetikus hatás kifejtésére is képes (Spampinato és mtsai, 1988).

III. REFERENCIA ANALGETIKUMOK ÉS PSZICHOAKTÍV SZEREK HATÁSA EMELKEDŐ HŐMÉRSÉKLETŰ VÍZFÜRDŐVEL MÉRT FÁJDALMAS HŐKÜSZÖBRE EGÉR BEN

A mérés reprodukálhatósága és az alkalmazott gyógyszerek hatása a fájdalmas hőküszöbre egér farkán

A fizsóval kezelt állatok hőküszöb értékeit ($45,88 \pm 0,11$ °C, $n=106$) összevetettük a kezelés előtt, 20 perces intervallummal mért két kontroll eredménnyel ($45,80 \pm 0,13$, $45,79 \pm 0,13$ °C). A három érték között nincs statisztikailag szignifikáns különbség. EZ bizonyítja, hogy ismételt mérések esetén a készülék megbízható, reprodukálható eredményeket ad, valamint hogy az ip. fizsó adás nem befolyásolja a fájdalmas hőküszöb alakulását. Az egyes csoportok kontroll értékeit összevetve szintén nem találtunk szignifikáns különbséget. Mindhárom referencia analgetikum megemelte a hőküszöböt. A morfin (3–24 mg/kg) bizonyult a leghatékonyabbnak, ugyanis a legmagasabb, 5 °C-os hőküszöb emelkedést okozta, és a legalacsonyabb minimális effektív dózissal rendelkezett (6 mg/kg). A két nem-szteroid gyulladáscsökkentő, a diklofenak (3–30 mg/kg) és a metamizol (100–1000 mg/kg) az alkalmazott legmagasabb dózisonál is csak kisebb hatást (0,69 és 1,23 °C küszöbemelkedést) váltott ki. A diazepam két legmagasabb (15 és 30 mg/kg), míg a droperidol csak a legmagasabb dózis (7,5 mg/kg) esetén emelte meg a hőküszöböt. Ezen szerek esetén a maximális emelkedés 1,38 és 1,21 °C volt.

A gyógyszerek hatása a pszichomotoros aktivitásra open field teszttel mérve

A morfin (3–24 mg/kg) két legmagasabb dózisa csökkentette az ágaskodások számát. A diklofenak (3–30 mg/kg) nem befolyásolta a teszttel mért paramétereket. A metamizol (100–1000 mg/kg) erőteljes, dózisfüggő gátló hatást váltott ki a legtöbb vizsgált paraméterben, a legkisebb dózis csak a teszt utolsó harmadában, kis mértékben befolyásolta a mozgásokat. A diazepam (5–30 mg/kg) hasonló, dózisfüggő gátló hatással bírt. A droperidol (0,75–7,5 mg/kg) esetén jelentős, dózisfüggő lokomotoros aktivitás-csökkenést detektáltunk. A gyógyszerek sem önmagukban, sem kombinációkban (lásd következő bekezdés) nem váltottak ki általános érzéstelenítést, ill. nem tették lehetetlenné nocifenzív reakció megjelenését.

Gyógyszerkombinációk hatása a hőküszöbre és a pszichomotoros aktivitásra

Az alkalmazott legkisebb dózisu (3 mg/kg) morfint, ami nem okozott még fájdalmas hőküszöb emelkedést és nem volt hatással az open field tesztre, kombináltuk olyan dózisu diklofenakkal (10 mg/kg), metamizollal (500 mg/kg), diazepammal (5 mg/kg) és droperidollal (2,5 mg/kg), ami még szintén nem rendelkezett antinociceptív hatással. Az összes kombináció statisztikailag szignifikáns hőküszöb emelkedést okozott a gyógyszeradás előtti értékekhez viszonyítva. A morfin az analgetikummal együtt adva nem vagy kisebb mértékű pszichomotoros gátlást okozott, mint a fájdalomcsillapítók önmagukban. A morfin és a pszichoaktív szerek kombinációja azonban kissé erőteljesebb pszichomotoros aktivitáscsökkenést okozott, mint a diazepam vagy droperidol egyedül. Ezekkel szemben a két nem-opioid analgetikum (diklofenak és metamizol) kombinációja nem befolyásolta a hőküszöböt.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az emelkedő hőmérsékletű vízfürdő alkalmas egér farkán fájdalmas hőküszöb reprodukálható mérésére, valamint analgetikumok termális antinociceptív hatásának és azok interakcióinak vizsgálatára. Mivel a hőküszöb az elektrofiziológiai kísérletekben és humán vizsgálatokban egy rutinszerűen meghatározott paraméter, ezért módszerünkkel kapott eredmények azokkal összevethetőbbek, mint a latenciaidő. Mivel a termonocicepciót vizsgáló hagyományos módszerek (forró lap, fark elrántásos, láb elrántásos teszt) nem elég érzékenyek a különböző nem szteroid gyulladáscsökkentőkre (Le Bars és mtsai, 2001; Bölcskei, 2012), így az, hogy az általunk alkalmazott módszer képes kimutatni a diklofenak termális antinociceptív hatását, mindenképpen a módszer előnyös tulajdonságának tekinthető. Vizsgálataink bizonyítják, hogy az alkalmazott módszer képes detektálni a pozitív antinociceptív interakciót a morfin és a nem-opioid analgetikumok (diklofenak, metamizol), ill. a morfin és a pszichoaktív szerek (diazepam, droperidol) között. Továbbá eredményeink rávilágítanak a viselkedési vizsgálatok, mint pl. az open field teszt fontosságára az antinociceptív szerek preklinikai vizsgálata során, ahogy erre már korábbi áttekintő cikkek is rámutattak (Negis és mtsai, 2006; Mogil, 2009).

ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Kimutattuk, hogy a kénes, harkányi gyógyvízzel végzett balneoterápia javította a pikkelysömörös tüneteket: PASI $7,74 \pm 1,60$ (2,2-21,6) értékről $3,81 \pm 1,02$ (0-13,4) értékre csökkent. A három hetes kezelés végére szignifikánsan megemelkedett a plazma szomatosztatin-szerű immunreaktivitása (1. nap: $10,07 \pm 0,61$ fmol/ml; 21. nap: $21,26 \pm 2,09$ fmol/ml). A fürdőkúrát követően a Langerhans-sejtek dermális populációi eltűntek, az epidermiszben pedig a normál bőrre jellemző eloszlást mutattak.
2. Allergiás kontakt dermatitisz modellünkben a harkányi gyógyvizes fürdőkezelés csökkentette a hátsó lábon kialakult ödémát, azonban sem a gyulladt bőrminták MPO enzimaktivitása, sem a TNF- α koncentrációja nem változott szignifikánsan a gyógyvíz hatására. A hisztopatológiai elváltozások vizsgálata során szintén nem tudtuk kimutatni a fürdő jótékony hatását. Így arra a következtetésre jutottunk, hogy a kénes gyógyvíz nem annyira a sejtet, mint inkább a gyulladás vaszkuláris fázisára hat. Mivel a 37 °C-os csap- vagy desztillált vizes kezelés nem befolyásolta a gyulladásos tüneteket, így a gyógyvíz gyulladáscsökkentő tulajdonságáért a kémiai komponensek, elsősorban a kénhidrogén felelős.
3. MIA-indukálta egér oszteoarthritisz modellben a balneoterápia mérsékelte a hátsó végtag terheléscsökkenését. Bár a mechanonociceptív küszöb változásában nem tudtuk kimutatni szignifikáns különbséget, a súlyeloszlás vizsgálatok kapott eredmények mégis arra utalnak, hogy a gyógyvíz hatására az arthritiszos láb fájdalom csökkent. Szövetani vizsgálatok alapján a gyulladásra és a porcdegenerációra is kedvezően hatott a gyógyvíz.
4. A kéthetes H₂S donor NaHS-oldatos fürdőkezelés szignifikánsan megemelte a plazma SST koncentrációját. Feltételezhető, hogy az endogén, anti-inflammatórikus és analgetikus peptid

SST szerepet játszik a kénes gyógyvizek gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító mechanizmusában.

5. Azt tapasztaltuk, hogy a Trpa1 génhányos állatokban OA modellben kisebb volt a mechanikai hiperalgéria és mérséklődött a hátsó végtag terheléscsökkenése. Tehát a receptor szerepet játszik OA modellben a fájdalom közvetítésében.

6. Kimutattuk, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható, a klinikai gyakorlatban alkalmazott EMSPOMA® krém egyetlen kapszaicinoid molekulája a nonivamid (0,01%).

7. A nonivamid tartalmú krémmel végzett lokális pakolás fájdalomcsillapító hatását bizonyítottuk krónikus derékfájdalomban szenvedő betegeknél. A 30 perces kezelés hatására szignifikánsan megemelkedett a plazma SST-szerű immunreaktivitása. Bár állatkísérletben munkacsoportunk korábban már igazolta, hogy a kapszaicin-érzékeny szenzoros rostok izgatásával szignifikánsan megemelkedik a vérplazma szomatosztatin koncentrációja, jelen kísérleteinkkel elsőként bizonyítottuk, hogy a lokális kapszaicinoid (nonivamid) emberben is szisztémás fájdalomcsillapító hatással bír, miközben a fájdalomcsillapító és gyulladáscsökkentő neuropeptid, a szomatosztatin szintje többszörösére emelkedik a vérben ($16,8 \pm 3,1$ fmol/ml-ről $56,9 \pm 7,7$ fmol/ml-re).

8. Az emelkedő hőmérsékletű vízfürdő egér farkára történő validálása során azt tapasztaltuk, hogy a berendezés alkalmas a morfin és a diklofenak termális antinociceptív, ill. a diklofenak, metamizol, diazepam és droperidol „morfin-spóroló” hatásának megbízható detektálására. Eredményeink egy része azt a nézetet erősíti, hogy még a jelentős pszichomotoros gátlás sem vált ki termális antinociceptív hatást az alkalmazott tesztben. További fontos következtetésünk, hogy az analgetikumok vizsgálatakor érdemes viselkedési tesztek is végezni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Pintér Erika professzorasszonynak, aki témavezetőként tanácsaival segített, hogy állandó kétségeim ellenére megmaradjak és haladjak előre a kutatói lét kanyargós ösvényein. Köszönettel tartozom Dr. Helyes Zsuzsanna professzorasszonynak, hogy ajtaja mindig nyitva áll, kérdéseimmel mindig fordulhattam hozzá, válaszai mindig előrevittek. Köszönöm Dr. Barthó Loránd professzor úrnak, hogy megtisztelt bizalmával és megfelelő időszakban feladatot adott. Kapcsolatba kerültem Dr. Pethő Gábor professzor úrral, aki hatalmas tudásával, kiváló pedagógiai érzékével mutat példát. Dr. Kemény Ágnes vezetett be az állatkísérletes munkába. Köszönet a publikációkban megjelent ábrák kivitelezéséért is. Szeretném megköszönni Olaszné Zádor Csilla elsősorban az egerek fürdetésekor nyújtott segítségét, barátságát. Dr. Bölcskei Kata fiatal kora ellenére óriási tudása, mérhetetlen szakmai tapasztalata elismerésre méltó. Bagoly Teréz RIA mérései és Perkecz Anikó szövettani munkája nélkülözhetetlenek voltak dolgozatom létrejöttéhez. Örömmre szolgál, hogy együtt dolgozhattam nagy tapasztalattal rendelkező asszisztensünkkel, Gógl Csabáné, Kati néniel. Önböli Dórának szeretném megköszönni, hogy mindig számíthattam rá. Szeretnék köszönetet

mondani Dr. Sebők Béla bőrgyógyásznak, Dr. Horváth Katalin reumatológusnak, valamint Dr. Kerécz Tamásnak a Zsigmondy Vilmos Harkányi Gyógyfürdő Kórház igazgatójának és dolgozóinak, akik a pikkelysömörös, ill. a derékfájdalomban szenvedő betegekkel végzett klinikai vizsgálatokat segítették. Az egérplazma SST koncentrációjának meghatározását köszönöm a Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetből Dr. Márk Lászlónak és Dr. Maász Gábornak. Az EMSPOMA® krém nonivamid tartalmát a Bioanalitikai Intézetben Dr. Kilár Ferenc és Sándor Viktor határozta meg, köszönöm. Köszönet a szövettani vizsgálatokért Dr. László Teréziának és Dr. Kereskai Lászlónak, a Pathológiai Intézet munkatársainak. A dolgozatban nem szerepel az eredmény, de Dr. Zengő Líviával és Dr. Nagy Gézával közös munkánk gyümölcse egy publikáció és egy mintaoltalmi szabadalom *in vivo* mérésekre alkalmas H₂S szenzorról. Köszönöm, hogy részese lehettem a fejlesztésnek. Szeretném megköszönni Dr. Pozsgai Gábornak, hogy nagy tudásával, sokirányú ismeretével, kiváló meglátásaival tette jobbá dolgozatomat. Szeretném kifejezni köszönetemet PhD-hallgató társaimnak, valamint az intézet valamennyi további dolgozójának, akikkel még kapcsolatba kerültem, munkámhoz segítettek nyújtottak. Mérheterlen hálával tartozom családomnak, akik a hétköznapi terhek átvállalásával, türelmükkel, támogatásukkal és szeretetükkel lehetővé tették, hogy ez a munka létrejöjjön.

IRODALOMJEGYZÉK

- Anand P**, Bley K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. *Br J Anaesth* 2011;107:490–502.
- Bánvölgyi Á**, Pálkás L, Berki T et al. Evidence for a novel protective role of the vanilloid TRPV1 receptor in a cutaneous contact allergic dermatitis model. *J Neuroimmunol* 2005;169:86-96.
- Bar KJ**, Schurigt U, Scholze A, Segond Von Banchet G, Stopfel N, Bräuer R, Halbhuber KJ, Schaible HG. The expression and localization of somatostatin receptors in dorsal root ganglion neurons of normal and monoarthritic rats. *Neuroscience* 2004;127:197–206.
- Berg KA**, Patwardhan AM, Akopian AN. Receptor and Channel Heteromers as Pain Targets. *Pharmaceuticals* 2012;5:249-278.
- Bley KR**. TRPV1 agonist approaches for pain management, In: Gomtsyan A, Faltynek CR. Vanilloid Receptor TRPV1 in Drug Discovery: Targeting Pain and Other Pathological Disorders. New York, Wiley, 2010;325–47.
- Bölcskei K**. Methods to study thermosensation in rodents. In: Szallasi A, Bíró T. TRP channels in drug discovery: Volume II, Methods in Pharmacology and Toxicology. Springer Science+Business Media, LLC 2012;401-417.
- Carlton SM**, Du J, Davidson E, Zhou S, Coggeshall RE. Somatostatin receptors on peripheral primary afferent terminals: inhibition of sensitized nociceptors. *Pain* 2001;90:233–44.
- Chowers Y**, Cahalon L, Lahav M, Schor H, Tal R, Bar-Meir S, Levite M. Somatostatin through its specific receptor inhibits spontaneous and TNF- α and bacteria-induced IL-8 and IL-1 β secretion from intestinal epithelial cells. *J Immunol* 2000;165:2955–61.
- Chrubasik J**, Meynadier J, Scherpereel P, Wunsch E. The effect of epidural somatostatin on postoperative pain. *Anesth Analg* 1985;64:1085-1088.
- Chrubasik S**, Weiser T, Beime B. Effectiveness and safety of topical capsaicin cream in the treatment of chronic soft tissue pain. *Phytother Res* 2010;24:1877–85.
- Dedov VN**, Mandadi S, Armati PJ, Verkhatsky A. Capsaicin-induced depolarisation of mitochondria in dorsal root ganglion neurons is enhanced by vanilloid receptors. *Neuroscience* 2001;103:219-26.
- Domján L**, Nemes T, Bálint GP, Tóth Z, Gömör B. A simple method for measuring lateral flexion of the dorsolumbar spine. *J Rheumatol* 1990;17:663–665.

Elliott DE, Li J, Blum AM, Metwali A, Patel YC, Weinstock JV. SSTR2A is the dominant somatostatin receptor subtype expressed by inflammatory cells, is widely expressed and directly regulates T cell IFN- γ release. *Eur J Immunol* 1999;29:2454–63.

Fang JY, Wu PC, Huang YB, Tsai YH. In vivo percutaneous absorption of capsaicin, nonivamide and sodium nonivamide acetate from ointment bases: skin erythema test and noninvasive surface recovery technique in humans. *Int J Pharm* 1996;131:143–151.

Fioravanti A, Govoni M, La Montagna G, Perpignano G, Tirri G, Trotta F, Bogliolo A, Ciocci A, Mauceri MT, Marcolongo R. Somatostatin 14 and joint inflammation: evidence for intraarticular efficacy of prolonged administration in rheumatoid arthritis. *Drugs Exp Clin Res* 1995;21:97-103.

Fischer MJ, Balasuriya D, Jeggle P, Goetze TA, McNaughton PA, Reeh PW, Edwardson JM. Direct evidence for functional TRPV1/TRPA1 heteromers. *Pflugers Arch* 2014;466:2229-41.

Harvey VL, Dickenson AH. Behavioural and electrophysiological characterisation of experimentally induced osteoarthritis and neuropathy in C57Bl/6 mice. *Mol Pain* 2009;5:18.

Helyes Zs, Pintér E, Németh J, Kéri Gy, Thán M, Oroszi G, Horváth A, Szolcsányi J. Antiinflammatory effect of synthetic somatostatin analogues in the rat. *Br J Pharmacol* 2001;134: 1571-1579.

Helyes Zs, Pintér E, Németh J, Szolcsányi J. Pharmacological targets for the inhibition of neurogenic inflammation. *Curr Med Chem AIAAA* 2 2003;191–218.

Helyes Zs, Pintér E, Szolcsányi J, Horváth J. Anti-inflammatory and antinociceptive effect of different somatostatin-analogs. *Neurobiology (Bp)* 1996;4:115–7.

Helyes Zs, Szabó A, Németh J, Jakab B, Pintér E, Bánvölgyi A, Kereskai L, Kéri G, Szolcsányi J. Antiinflammatory and analgesic effects of somatostatin released from capsaicin-sensitive sensory nerve terminals in a Freund's adjuvant-induced chronic arthritis model in the rat. *Arthritis Rheum* 2004;50:1677–85.

Helyes Zs, Thán M, Oroszi G, Pintér E, Németh J, Kéri G, Szolcsányi J. Anti-nociceptive effect induced by somatostatin released from sensory nerve terminals and by synthetic somatostatin analogues in the rat. *Neurosci Lett* 2000;278:185–8.

Hill R. NK1 (substance P) receptor antagonists—why are they not analgesic in humans? *Trends Pharmacol Sci* 2000;21:244–6.

Hinman A, Chuang HH, Bautista DM, Julius D. TRP channel activation by reversible covalent modification. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:19564-8.

Imhof AK, Glück L, Gajda M, Lupp A, Bräuer R, Schaible HG, Schulz S. Differential antiinflammatory and antinociceptive effects of the somatostatin analogs octreotide and pasireotide in a mouse model of immune-mediated arthritis. *Arthritis Rheum* 2011;63:2352-62.

Jordt SE, Julius D. Molecular basis for species-specific sensitivity to “hot” chili peppers. *Cell* 2002;108:421–430.

Jordt SE, Tominaga M, Julius D. Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extracellular site. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:8134–8139.

Kaale E, Van Schepdael A, Roets E, Hoogmartens J. Determination of capsaicinoids in topical cream by liquid-liquid extraction and liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2002;30(4):1331-7.

Karalis K, Mastokaros G, Chrousos GP, Tolis G. Somatostatin analogues suppress the inflammatory reaction in vivo. *J Clin Invest* 1994;93:2000-6.

Kawamura S, Kume H, Yonezawa A, Ando R, Sakurada T. Desensitizing mechanism of capsaicin and nonanoyl vanillylamide on the vascular nociceptive response in the guinea pig. *Regul Pept* 1993;46:415–417.

Koch BD, Blalock JB, Schonbrunn A. Characterization of the cyclic AMP-independent actions of somatostatin in GH cells. I. An increase in potassium conductance is responsible for both the hyperpolarization and the decrease in intracellular free calcium produced by somatostatin. *J Biol Chem* 1988;263:216-25.

Koplas PA, Rosenberg RL, Oxford GS. The role of calcium in the desensitization of capsaicin responses in rat dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci* 1997;17:3525-3237.

Kumar U. Role of somatostatin and somatostatin receptors in pain. In: Cairns BE (Ed.) *Peripheral Receptor Targets for Analgesia: Novel Approaches to Pain Management*. Wiley, New Jersey, 2009;397-417.

Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001;53:597–652.

Lembeck F, Donnerer J, Barthó L. Inhibition of neurogenic vasodilation and plasma extravasation by substance P antagonists, somatostatin and [D-Met², Pro⁵]enkephalinamide. *Eur J Pharmacol* 1982;85:171-6.

Li L, Moore PK. Putative biological roles of hydrogen sulfide in health and disease: a breath of not so fresh air? *Trends Pharmacol Sci* 2008;29:84-90.

Li L, Rose P, Moore PK. Hydrogen sulfide and cell signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2011;51:169-87.

Liu B, Escalera J, Balakrishna S, Fan L, Caceres AI, Robinson E, Sui A, McKay MC, McAlexander MA, Herrick CA, Jordt SE. TRPA1 controls inflammation and pruritogen responses in allergic contact dermatitis. *FASEB J* 2013;27:3549-63.

Maggi CA, Meli A. The sensory-efferent function of capsaicin-sensitive sensory neurons. *General Pharmacology: The Vascular System* 1988;19:1-43.

Miyamoto R, Otsuguro K, Ito S. Time- and concentration-dependent activation of TRPA1 by hydrogen sulfide in rat DRG neurons. *Neurosci Lett* 2011;499:137–142.

Mogil JS. Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci* 2009;10:283-94.

Negus SS, Vanderah TW, Brandt MR, Bilsky EJ, Becerra L, Borsook D. Preclinical assessment of candidate analgesic drugs: recent advances and future challenges. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:507-14.

Németh J, Helyes Z, Görcs T, Gardi J, Pintér E, Szolcsányi J. Development of somatostatin radioimmunoassay for the measurement of plasma and tissue contents of hormone. *Acta Physiol Hung* 1996;84:313–5.

Ogawa H, Takahashi K, Miura S, Imagawa T, Saito S, Tominaga M, Ohta T. H₂S functions as a nociceptive messenger through transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) activation. *Neuroscience* 2012;218:335–343.

Patacchini R, Santicoli P, Giuliani S, Maggi CA. Hydrogen sulfide (H₂S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. *Br J Pharmacol* 2004;142:31-4.

Patel YC, Greenwood MT, Panetta R, Demchyshyn L, Niznik H, Srikant CB. The somatostatin receptor family. *Life Sciences* 1995;57:1249-1265.

Pintér E, Helyes Zs, Németh J, Pórszász R, Pethő G, Thán M, Kéri G, Horváth A, Jakab B, Szolcsányi J. Pharmacological characterisation of the somatostatin analogue TT-232: effects on neurogenic and non-neurogenic inflammation and neuropathic hyperalgesia. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch of Pharmacol* 2002;366:142-150.

Pintér E, Helyes Zs, Szolcsányi J. Inhibitory effect of somatostatin on inflammation and nociception. *Pharmacol Ther* 2006;112:440-56.

Pintér E, Szolcsányi J. Inflammatory and antiinflammatory effects of antidromic stimulation of dorsal roots in the rat. *Agents Actions* 1988;25:240-2.

Pintér E, Szolcsányi J. Systemic anti-inflammatory effect induced by antidromic stimulation of the dorsal roots in the rat. *Neurosci Lett* 1996;212:33-6.

Piper AS, Yeats JC, Bevan S, Docherty RJ. A study of the voltage-dependence of capsaicin-sensitive membrane currents in rat sensory neurons before and after acute desensitization. *J Physiol* 1999;518:721–733.

Shi TJS, Xiang Q, Zhang MD, Barde S, Kai-Larsen Y, Fried K, Josephson A, Glück L, Deyev SM, Zvyagin AV, Schulz S, Hökfelt T. Somatostatin and its 2A receptor in dorsal root ganglia and dorsal horn of mouse and human: expression, trafficking and possible role in pain. *Molecular Pain* 2014;10:12.

Skofitsch G, Donnerer J, Lembeck F. Comparison of nonivamide and capsaicin with regard to their pharmacokinetics and effects on sensory neurons. *Arzneimittelforschung* 1984;34:154–6.

Smith CH, Anstey AV, Barker JN et al. British Association of Dermatologists' guidelines for biologic interventions for psoriasis 2009. *British Journal of Dermatology* 2009;161:987-1019.

Spampinato S, Romualdi P, Candeletti S, Cavicchini E, Ferri S. Distinguishable effects of intrathecal dynorphins, somatostatin, neurotensin and s-calcitonin on nociception and motor function in the rat. *Pain* 1988;35:95-104.

Staruschenko A, Jeske NA, Akopian AN. Contribution of TRPV1-TRPA1 interaction to the single channel properties of the TRPA1 channel. *J Biol Chem* 2010;285:15167–15177.

Streng T, Axelsson H E, Hedlund P et al. Distribution and function of the hydrogen sulfide-sensitive TRPA1 ion channel in rat urinary bladder. *Eur Urol* 2008;53:391–99.

Szolcsányi J, Helyes Zs, Oroszi G, Németh J, Pintér E. Release of somatostatin and its role in the mediation of the antiinflammatory effect induced by antidromic stimulation of sensory fibres of rat sciatic nerve. *Br J Pharmacol* 1998a;123:936–942.

Szolcsányi J, Pintér E, Helyes Zs, Oroszi G, Németh J. Systemic anti-inflammatory effect induced by counter-irritation through a local release of somatostatin from nociceptors. *Br J Pharmacol* 1998b;125:916–922

Szolcsányi J, Pintér E, Helyes Zs. Sensocrine function of capsaicin-sensitive nociceptors mediated by somatostatin regulates against inflammation and hyperalgesia. In: Handwerker HO, Brune K. (Eds.). *Hyperalgesia: molecular mechanisms and clinical implications*. IASP Press, Seattle, 2004;113-128.

Szolcsányi J. Antidromic vasodilatation and neurogenic inflammation. *Agents and Actions* 1988;23:4-11.

Szolcsányi J. Capsaicin-sensitive chemoceptive neural system with dual sensory-efferent function. In: Antidromic Vasodilatation and Neurogenic Inflammation. Chahl L A, Szolcsányi J, Lembeck F. ed Akadémiai Kiadó, Budapest 1984:27-55.

Szolcsányi J. Future perspectives of capsaicin research. In: Amit K(Ed.). Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Vol. Capsicum. Harwood Acad Press 2003;248-269.

Szolcsányi J. Hot target on nociceptors: perspectives, caveats and unique features. Br. J. Pharmacol 2008;155:1142-1144.

ten Bokum AM, Hofland LJ, van Hagen PM. Somatostatin and somatostatin receptors in the immune system: a review. Eur Cytokine Netw 2000;11:161–176.

Thán M, Németh J, Szilvássy Z, Pintér E, Helyes Zs, Szolcsányi J. Systemic antiinflammatory effect of somatostatin released from capsaicin-sensitive vagal and sciatic sensory fibres of the rat and guinea-pig. Eur J Pharmacol 2000;399:251-258.

Trevisani M, Patacchini R, Nicoletti P, Gatti R, Gazzieri D, Lissi N, Zagli G, Creminon C, Geppetti P, Harrison S. Hydrogen sulfide causes vanilloid receptor 1-mediated neurogenic inflammation in the airways. British Journal of Pharmacology 2005;145:1123-1131.

Tsai YH, Huang YB, Fang JY, Wu PC. Percutaneous absorption of capsaicin and its derivatives. Drug Dev Ind Pharm 1994;20:719–730.

van der Kraan PM, Vitters EL, van de Putte LBA, van den Berg WB. Development of Osteoarthritic Lesions in Mice by "Metabolic" and "Mechanical" Alterations in the Knee Joints. American Journal of Pathology 1989;135:1001-1014.

van Hagen PM, Krenning EP, Kwekkeboom DJ, Reubi JC, Anker-Lugtenburg PJ, Löwenberg B, Lamberts SW. Somatostatin and the immune and haematopoietic system; a review. Eur J Clin Invest 1994;24:91-9.

Walpole CS, Wrigglesworth R, Bevan S, Campbell EA, Dray A, James IF, Masdin KJ, Perkins MN, Winter J. Analogues of capsaicin with agonist activity as novel analgesic agents; structure-activity studies. 3. The hydrophobic side-chain 'C-region'. J Med Chem 1993;36:2381–2389.

Weckbecker G, Lewis I, Albert R, Schmid HA, Hoyer D, Bruns C. Opportunities in somatostatin research: biological, chemical and therapeutic aspects. Nat Rev Drug Discov 2003;2:999-1017.

Weiser T, Roufogalis B, Chrubasik S. Comparison of the Effects of Pelargonic Acid Vanillylamide and Capsaicin on Human Vanilloid Receptors. Phytother Res 2013;27: 1048–1053.

Zanardo RC, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. FASEB J 2006;20:2118-20.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983;6:109–10.

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények

Boros M, Kemény Á, Sebők B, Bagoly T, Perkecz A, Petóházi Z, Maász G, Schmidt J, Márk L, László T, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E. **Sulphurous medicinal waters increase somatostatin release; it is a possible mechanism of anti-inflammatory effect of balneotherapy in psoriasis.** European Journal of Integrative Medicine 2013;5:109-118.

IF: 0,649

Horváth K*, **Boros M***, Bagoly T, Sándor V, Kilár F, Kemény Á, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E. **Analgesic topical capsaicinoid therapy increases somatostatin-like immunoreactivity in the human plasma.** Neuropeptides 2014;48:371–378.

* megosztott első szerzők

IF:2,546

Boros M, Benkó R, Bölcskei K, Szolcsányi J, Barthó L, Pethő G. **Effects of reference analgesics and psychoactive drugs on the noxious heat threshold of mice measured by an increasing-temperature water bath.** Basic Clinical and Pharmacological Toxicology 2013;113:385–390.

IF: 2,294

Az értekezés alapját képező eredeti közlemények kumulatív impakt faktora: 5,489

Független idézők száma: 2.

Egyéb teljes közlemények

Nagy L, Filotas D, **Boros M**, Pozsgai G, Pinter E, Nagy G. **Amperometric cell for subcutaneous detection of hydrogen sulfide in anesthetized experimental animals.** Physiological Measurement 2014;35:2475-2487.

IF: 1,617

Pozsgai G, Hajna Z, Bagoly T, **Boros M**, Kemény A, Materazzi S, Nassini R, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E. **The role of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) receptor activation in hydrogen-sulphide-induced CGRP-release and vasodilation.** European Journal of Pharmacology 2012;689:56-64.

IF: 2,592, Független idézők: 13

Az összes közlemény kumulatív impakt faktora: 9,698

Független idézők: 15

Idézhető absztraktok

Boros M, Helyes Z, Kemény A, Sandor K, Cseharovszky R, Grosz J, Szolcsányi J, Sebok B, Kerecz T, Debreceni B, Debreceni L, Pinter E. **Effect of H₂S-containing baths on experimental dermatitis and arthritis in mice.** Neuropeptides 2010;44:533.

Pozsgai G, Bagoly T, Hajna Zs, **Boros M**, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E. **Role of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) receptors in hydrogen sulphide-evoked calcitonin gene-related peptide (CGRP) release from isolated rat tracheae.**

Acta Physiologica 2011;202:(S684)98-99.

Kemény Á, **Boros M**, Borbély É, Hajna Zs, Sétáló Gy, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Zs. **Cytokine Profiling in different inflammatory in vivo mice models.** Acta Physiologica 2011;202:(S684)53-54.

Kemény Á, **Boros M**, Borbély E, Hajna Zs, Sétáló G, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Zs. **Cytokine profiling of inflamed mouse tissues obtained from different in vivo models.** Journal of Molecular Neuroscience 2012;48:(S199)1.

Független idézők: 1

Boros M, Mészáros K, Grósz J, Perkecz A, Bagoly T, Kemény Á, Maász G, Márk L, Szolcsányi J, Helyes Zs, Pintér E. **Investigation of local capsaicin treatment and balneotherapy in degenerative disorders of joints.** European Journal of Clinical Investigation 2012;42:60.

Boros M, Kemény Á, Cseharovszky R, Helyes Zs, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Pintér E. **The role of balneotherapy in the treatment of psoriasis.** Journal of Molecular Neuroscience 2012;48(S197)1.

Az értekezés alapját képező konferencia prezentációk

Boros M, Helyes Zs, Kemény Á, Sándor K, Cseharovszky R, Grósz J, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Debreceni B, Debreceni L, Pintér E: **Kénhidrogén-tartalmú fürdők hatásának vizsgálata bőr- és ízületi gyulladás állatkísérletes modelljeiben.** A Magyar Élettani Társaság és a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság II. közös tudományos konferenciája, 2010. június 16-18., Szeged (poszter)

Boros M, Helyes Zs, Kemény Á, Sándor K, Cseharovszky R, Grósz J, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Debreceni B, Debreceni L, Pintér E: **Effect of H₂S-containing baths on experimental dermatitis and arthritis in mice.** 7th Joint Meeting of the European Neuropeptide Club and the Summer Neuropeptide Conference, 2010. június 21-24., Pécs (poszter)

Kemény Á, **Boros M**, Cseharovszky R, Bagoly T, Perkecz A, Debreceni B, Sebők B, Helyes Zs, Pintér E: **Sulphuric thermal water and Sulfivit inhibit the oxazolone-induced allergic contact dermatitis in mice.** 10th Congress of the European Society of Contact Dermatitis, 2010. szeptember 15-18., Strasbourg (poszter)

Boros M, Helyes Zs, Kemény Á, Sándor K, Cseharovszky R, Grósz J, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Debreceni B, Debreceni L, Pintér E: **Kéntartalmú fürdők hatásának vizsgálata ízületi gyulladás állatkísérletes modelljeiben.** Magyar Balneológia Egyesület Jubileumi Nagygyűlése, 2010. november 19-20., Gyula (poszter)

Boros M, Helyes Zs, Kemény Á, Sándor K, Cseharovszky R, Grósz J, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Debreceni B, Debreceni L, Pintér E: **Effect of H₂S-containing baths on experimental dermatitis and arthritis in mice.** 4rd International Congress of Pharmacology and Therapeutics and 9th National Congress of the Cuban Society of Pharmacology, 2010. december 13-16., Havanna (poszter)

Boros M, Kemény A, Cseharovszky R, Helyes Zs, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Pintér E: **The role of balneotherapy in the treatment of psoriasis.** Joint Meeting of the Summer Neuropeptide Conference and the European Neuropeptide Club (ENC), 2011. május 22-25., Boston (poszter)

Boros M, Kemény Á, Cseharovszky R, Helyes Zs, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T, Pintér E: **A harkányi gyógyvíz szerepe a pikkelysömör kezelésében.** Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani (FAMÉ) Társaságok Közös Tudományos Konferenciája, 2011. június 8-11., Pécs (előadás)

Pintér E, **Boros M**, Kemény Á, Helyes Zs, Szolcsányi J, Sebők B, Kerécz T: **A harkányi gyógyvíz szerepe a pikkelysömör kezelésében.** Magyar Balneológiai Egyesület 2011. Évi Nagygyűlése, 2011. november 18-20., Harkány (előadás)

Boros M, Mészáros K, Grósz J, Perkecz A, Bagoly T, Kemény Á, Maász G, Márk L, Szolcsányi J, Helyes Zs, Pintér E: **Investigation of local capsaicin treatment and balneotherapy in degenerative disorders of joints.** 46th Annual Scientific Meeting of ESCI, 2012. március 22-24., Budapest (előadás)

Pintér E, Horváth K, **Boros M**, Bagoly T, Sándor V, Kilár F, Kemény Á, Helyes Zs, Szolcsányi J: **Endogenous somatostatin mediates systemic antinociceptive effect of topical capsaicinoid therapy.** 20th International Symposium on Regulatory Peptides (REGPEP2014), 2014. szeptember 7-10., Kyoto, Japán (előadás)

Horváth K, **Boros M**, Bagoly T, Sándor V, Kilár F, Kemény Á, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E: **Az endogén szomatosztatin szerepet játszik a lokális kapszaicinoid kezelés szisztémás antinociceptív hatásában.** A Magyarországi Fájdalom Társaság 2014. évi kongresszusa és a IV. Neurostimulációs Szimpózium a Magyar Neurológiai Társaság részvételével, 2014. október 2-3., Pécs (poszter)

Boros M, Benkó R, Bölcskei K, Szolcsányi J, Barthó L, Pethő G: **Referencia analgetikumok és pszichoaktív szerek hatása emelkedő hőmérsékletű vízfürdővel mért nociceptív hőküszöbre egérben.** A Magyarországi Fájdalom Társaság 2014. évi kongresszusa és a IV. Neurostimulációs Szimpózium a Magyar Neurológiai Társaság részvételével, 2014. október 2-3., Pécs (poszter)

Egyéb prezentációk

Boros Melinda, Szloboda Anita: **Tarsza fajok (Isophya, Orthoptera) összehasonlító elemzése mtDNS analízissel és aktivitás vizsgálattal** XXVIII. OTDK, Biológia szekció, 2007. április 4-6., Debrecen (előadás, különdíj)

Helyes Zs, Kemény Á, Elekes K, **Boros M**, Bagoly T, Pintér E, Szolcsányi J, Maione TE: **The synthetic endomorphin-1 analog, CYT-1010, inhibits sensory neuropeptide release, acute neurogenic inflammation and heat injury-induced thermal hyperalgesia in rodent models.** Magyar Idegtudományi Társaság XIII. Konferencia (MIT), 2011. január 20-22., Budapest (poszter)

Pozsgai G, Bagoly T, Hajna Zs, **Boros M**, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E: **A TRPA1 receptor szerepe hidrogén-szulfid okozta CGRP felszabadulásban izolált patkány légcsőből.** Magyar Balneológiai Egyesület 2011. Évi Nagygyűlése, 2011. november 18-20., Harkány (poszter)

Hajna Zs, Pozsgai G, **Boros M**, Kemény Á, Helyes Zs, Szolcsányi J, Pintér E: **Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) receptors play a role in hydrogen sulphide-induced vasodilation of the mouse ear.** 2012. január 19-21.: IBRO International Workshop 2012, Szeged (poszter)

Mintaoltalmi szabadalom

Nagy Géza, Nagy Lívია, Pintér Erika, **Boros Melinda**, Pozsgai Gábor. **H₂S szenzor *in vivo* mérésekhez.** Lajstromszám: 4192, Közzététel éve: 2012