

## Az elért eredmények ismertetése (2004-2007):

1. Komplettn Freund adjuvánsal kiváltott krónikus ízületi gyulladásban a plazma szomatosztatin szintje a 21. napra 4x-esére emelkedett patkányban. A szomatosztatin receptor antagonisták ciklo-szomatosztatinnal naponta történő kezelése, valamint a kapszaicin-érzékeny szenzoros rostok működésének gátlása resiniferatoxin (RTX) előkezeléssel szignifikánsan fokozta az ízületi duzzadást, a hiperalgéziát, a szövettani elváltozások súlyosságát, valamint kiküszöbölte a plazma szomatosztatin emelkedését. Eredményeink bizonyítékot szolgáltatottak krónikus artritiszben létrejövő, új típusú, szenzoros eredetű szomatosztatin által közvetített endogén ellenregulációs folyamat létezésére (*Arthr. Rheum. 50, 1677-1685, 2004.*).

2. A szomatosztatin 4 receptor (sst<sub>4</sub>) altípushoz nagy affinitást mutató agonista heptapeptid vegyület, a TT-232, számos akut és krónikus gyulladással és fájdalommodellben hatékonyan bizonyult egérben és patkányban. A TT-232 dóziszfüggő módon, microg/kg dózistartományban szignifikánsan gátolta a formalinnal kiváltott akut kémiai nocicepciót, a diabéteszes neuropátiás mechanikai hiperalgéziát, emelte a hőküszöböt és csökkentette a termális hiperalgéziát (*Eur. J. Pharmacol. 498, 103-109, 2004*), valamint a krónikus ízületi gyulladást (*Arthr. Rheum. 50, 1677-1685, 2004*). Eredményeink alapján a TT-232 új típusú fájdalomcsillapító irányába történő gyógyszerfejlesztése indulhat meg.

3. A primér szenzoros neuronok kapszaicin-érzékeny csoportjának membránjában lokalizálódó tranzien receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) receptor számos kémiai és hőinger fontos integrátor molekulája. TRPV1 receptor génhiányos (TRPV1<sup>-/-</sup>) egerekben a Freund-adjuvánsal kiváltott krónikus ízületi gyulladás (lábduzzadás, szövettani elváltozások és gyulladással mechanikai hiperalgézia) szignifikánsan kisebb volt, mint TRPV1<sup>+/+</sup> vad típusúakban. Részletes vizsgálatok arra utaltak, hogy krónikus artritiszben a TRPV1 receptor lipoxigenáz ill. ciklooxygenáz termékekkel történő aktivációja, valamint bradykinin B2 receptor-mediálta szenzitizációja hozzájárul az artritisz fokozódásához. Mindezek alapján TRPV1 receptor antagonisták új terápiás lehetőséget jelenthetnek krónikus ízületi gyulladás és következményes fájdalom kezelésében (*J. Pharmacol. Exp. Ther. 314, 111-119, 2005.*).

4. TRPV1 receptor génhiányos egerekben akut és krónikus nociceptív modellekben végzett kísérleteink igazolták, hogy e receptor közvetíti a protein kináz C-t aktiváló forbol-mirisztát-acetát fájdalomkeltő hatását, de nem játszik szerepet a formalinnal kiváltott nocicepcióban, a fiziológiai körülmények között hővel előidézett fájdalomreakcióban és a traumás mononeuropátiában. Ezzel szemben streptozotocinnal kiváltott diabéteszes és ciszplatinnal indukált toxikus polineuropátia modellekben a hiperalgézia korábban jelentkezett és szignifikánsan nagyobb volt TRPV1<sup>-/-</sup> egerekben. Ennek magyarázata polineuropátiában a TRPV1 receptor aktivációjával felszabaduló és a szisztémás keringésbe jutó szomatosztatin anti-nociceptív hatása lehet. Ezen körképekben tehát TRPV1 antagonisták nem, ellenben szomatosztatin receptor agonisták jelenthetnek új terápiás lehetőséget (*Pain 117, 368-376, 2005*).

5. Mivel szelektív és in vivo hatékony TRPV1 receptor antagonisták jelenleg nem áll rendelkezésre, szükség van új kompetitív antagonisták kifejlesztésére a TRPV1 receptor különféle fiziológiai/ patofiziológiai funkcióinak vizsgálatához. Több kísérletsorozatban a JYL1421 (SC0030) és az SB366791 kódjelű új vegyületek hatékonyságát és szelektivitását vizsgáltuk a kapszaicinnal kiváltott válaszokra. Mindkét antagonisták gátolta in vitro a kapszaicinnal kiváltott szenzoros neuropeptid felszabadulást izolált patkány tracheából és a Ca<sup>2+</sup> akkumulációt trigeminus ganglion sejtekben. In vivo patkányban szignifikánsan

csökkentették a s.c. kapszaicin okozta testhőmérséklet csökkenést, a szembe cseppentett kapszaicinnal kiváltott pislogást és az i.v. kapszaicinnal kiváltott pulmonális kemoreflexet, valamint a kapszaicin lokális alkalmazásával kiváltott véráramlásfokozódást ízületben. A széles körben használt antagonistánál, a kapszazepinnél, mindkét vegyület sokkal szelektívebbnek és in vivo hatékonyabbnak bizonyult (*Neurosci. Lett.* 385, 137-142, 2005.; *Eur. J. Pharmacol.* 517, 35-44, 2005.).

**6.** A szelektív szomatosztatin 4 receptor (sst<sub>4</sub>) agonista nem-peptid molekula, a J-2156 (Juvantia Pharma, Turku, Finnország), szignifikánsan gátolta in vitro a szenzoros neuropeptidok (P-anyag, CGRP és szomatosztatin) felszabadulását, in vivo az akut neurogén és neurogén gyulladási folyamatokat patkányban és egérben, valamint a mechanikai hiperalgéziát traumás mononeuropátia és krónikus ízületi gyulladás modellekben patkányban (Szabadalmi beadvány: Juvantia Pharma (Turku, Finland), Szolcsányi J., Pintér E., Helyes Zs.: Anti-inflammatory and analgesic effects of compounds highly selective for the somatostatin receptor subtype sst4. 2005. Patent Appl. No. 20055236 in Finland; *Br. J. Pharmacol.* 149, 405-15. 2006.; *Eur. J. Pharmacol.* 539, 71-75. 2006.).

**7.** A szelektív szomatosztatin 1 receptor (sst<sub>1</sub>) agonista nem-peptid vegyület, a J-2578 ugyancsak szignifikánsan gátolta in vitro a szenzoros neuropeptidok felszabadulását, in vivo az akut neurogén gyulladási folyamatokat, valamint a mechanikai hiperalgéziát a traumás mononeuropátia modellben patkányban. Akut modellekben a J-2156 és J-2578 hatékonysága közel azonos volt, de a J-2156 hatásereje kb 10x nagyobb volt. Traumás neuropátiában azonban a J-2578 hatékonyabbnak bizonyult (az eredmények egyelőre szabadalmi okok miatt nem közölhetők).

**8.** Az MTA Peptid-Biokémiai kutatócsoportja (SE, Orvosi Vegytani Intézet) által szintetizált nem-peptid szerkezetű szomatosztatin receptor agonisták hatásának folyamatos vizsgálatát végezzük izolált patkány tracheából történő szenzoros neuropeptid-felszabadulásra, valamint in vivo akut gyulladási folyamatokra. 2006-ban 18 vegyület vizsgálata történt, melyek közül 6 in vivo is gátolta a neurogén gyulladást, 2 orális adás után is hatékonynak bizonyult. A 2005-ben és 2006-ban vizsgált vegyületek közül összesen 3 orálisan is hatékony vezető molekulát vizsgáltunk krónikus gyulladás és neuropátia modellekben, per os adás után tájékozódó kinetikai vizsgálatokat is végeztünk (az eredmények szabadalmi okok miatt még nem közölhetők). Jelenleg egy molekula számos betegségmodellben történő vizsgálata zajlik a preklinikai dosszié összeállítása céljából. A szomatosztatin gyulladásban és fájdalomban betöltött szerepéről, valamint szintetikus agonisták hatásairól felkérésre összefoglaló közleményt írtunk (*Pharmacology and Therapeutics*, 112, 440-56. 2006.).

**9.** Sst<sub>4</sub> receptor génhiányos egereket vizsgáltunk több gyulladás- és fájdalommodellben. A Freund adjuvánssal kiváltott krónikus ízületi gyulladás korai fázisban (1-5 nap) fokozott mechanikai hiperalgéziát és csökkent végtagi terhelést tapasztaltunk a vad típusú csoporthoz viszonyítva. Bár a lábduzzadás mértékében nem volt szignifikán eltérés, a 3 hetes kísérleti periódus végén emelkedett gyulladásos citokin (TNF- $\alpha$ ) koncentrációt mértünk a knockout egerek ízületi homogenizátumaiban (eredmények közlése a génhiányos egereket kifejlesztő cambridge-i munkacsoporttal közösen folyamatban van).

**10.** Endotoxinnal kiváltott légúti gyulladás modellben is igazolást nyert, hogy a kapszaicin-érzékeny érzőideg végződésének aktivációjával felszabaduló szomatosztatin gyulladásgátló hatással rendelkezik (*Regulatory Peptides* 141, 44-54, 2007.; *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 292, L1173-81, 2007.). E modellben immunhisztokémiai és molekuláris biológiai

(real time PCR) módszerekkel kimutattuk az sst<sub>4</sub> receptor, illetve mRNS-ének gyulladás hatására történő fokozott expresszióját. A TT-232 és a J-2156 (sst<sub>4</sub> receptor agonisták) hatékonyan gátolták mind az endotoxinnal kiváltott akut, mind az ovalbumin-indukálta krónikus légúti gyulladást és következményes hiperreaktivitást (*Eur. J. Pharmacol.* 578, 313-322, 2008.).

**11.** Egerek statikus mágneses térbe történő helyezése csökkentette a viszcerális (writhing teszt) és szomatikus (formalin teszt) nocifenzív reakciókat, valamint a reziniferatoxinnal kiváltott mechanikai allodiniát. Igazoltuk a kapszaicin-érzékeny érzőideg végződésének szerepét a mágneses térrel kiváltott anti-nociceptív hatásban (*Life Sciences* 81, 97-102, 2007.).

**12.** Bizonyítottuk, hogy a 38 aminosavból álló neuropeptid, a hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP-38) elektromos és kémiai ingerlés hatására felszabadul a kapszaicin-érzékeny érző idegsejtek perifériás végződéseiből. A PACAP hatékonyan gátolta a szenzoros neuropeptidok (SP, CGRP és szomatosztatin) felszabadulását, valamint akut neurogén gyulladási folyamatokat patkányban és egérben (*Neuroscience* 143, 223-30, 2006.; *Peptides* 28, 1847-55, 2007.). Perifériásan injektált PACAP gátolta patkányban a gyulladás- illetve a hőtrauma hatására kialakuló fájdalomküszöb csökkenést, valamint a formalinnal kiváltott szomatikus és az ecetsavval előidézett kémiai nocifenzív reakciókat, nem volt hatással mechanikai hiperalgéziára a traumás mononeuropátia modellben, és elektrofiziológiai vizsgálatok alapján meglepő módon szenzitizációt okozott a térdízületi afferens rostokon (*Pain-be közlésre elküldve*).

**13.** Az endomorphin-1 nevű mu-opioid receptor agonista szignifikáns gátlást mutatott a szenzoros neuropeptidok elektromos és kémiai ingerléssel történő felszabadulására és a neurogén- és nem neurogén gyulladási reakciókra (*Neuroscience* in press 2008, online elérhetőség: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience>)