

**Hemokinin-1, a legújabb tachykinin idegi és immun mediátor szerepe fájdalom, ízületi
gyulladás és bőrgyulladás egérmódeljeiben**

Doktori (PhD) Értekezés



dr Hunyady Ágnes

Gyógyszertudományok Doktori Iskola

Neurofarmakológia Program

Programvezető: Prof Dr Pintér Erika

Témavezetők: Prof Dr Helyes Zsuzsanna

Dr Borbély Éva

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM ORVOSTUDOMÁNYI KAR

FARMAKOLÓGIAI ÉS FARMAKOTERÁPIAI INTÉZET ÉS

SZENTÁGOTHAJ JÁNOS KUTATÓKÖZPONT

Pécs, 2021

1. Bevezetés

1.1. Fájdalom, gyulladás és az immunrendszer

A fájdalom az egyik leggyakoribb panasz, amivel az emberek orvoshoz fordulnak(1). A legtöbb esetben a kiváltó ok kezelésével megszüntethető, mégis az esetek 10-20%-ában krónikussá válik(2). A jelenleg használt fájdalomcsillapítók (nem szteroid gyulladáscsökkentők: nonsteroid anti-inflammatory drugs, NSAID, opioidok és adjuváns analgetikumok) nem hatásosak minden esetben, a hosszú távú alkalmazás pedig számos mellékhatással jár(3). A krónikus fájdalom számos esetben (autoimmun) gyulladásra vezethető vissza, illetve a központi idegrendszer (KIR) károsodása helyi gyulladáshoz és fájdalomhoz vezethet(4, 5). A nociceptorok közvetítik a fájdalomigert a perifériáról a gerincvelői hátsó szarvba, ahol a leszálló pályák befolyásolják a kialakuló fájdalomérzetet. A nociceptorok szenzitizációja kialakulhat perifériás és központi mechanizmussal is. A nociceptorok egy altípusa a kapszaicin-érzékeny idegvégződés, amik Transient Receptor Potential Vanilloid-1 (TRPV1) ioncsatornákat expresszálnak(6). Ezen idegvégződés speciális helyi efferens funkciója a neurogén gyulladás, amely során gyulladós neuropeptid szabadul fel az idegvégződésből(7). Jelentős kölcsönhatás van az ideg- és immunrendszer között: a felszabadult neuropeptid immunsejteket szabályozó funkciót bír(8), a mikroglia sejtek és egyéb immunsejtek pedig hatnak az idegsejtekre, idegvégződésekre(9), illetve nyirokereket fedeztek fel az agyban(10, 11). Ezen kölcsönhatások és az ezért felelős molekulák felderítése segíthetné a fájdalommal járó kórképek kezelését.

1.2. Hemokinin-1, a tachykinin család legújabb tagja

A tachykininek egy klasszikus neuropeptid család, képviselői a P-anyag (SP), a neurokinin-A (NKA) és a neurokinin-B (NKB). Molekuláris célpontjaik G-protein-kapcsolt receptorok: a tachykinin neurokinin 1, 2, és 3 (NK₁-, NK₂- és NK₃) receptorok. Mindegyik tachykinin kötődik mindegyik receptorhoz, azonban a SP az NK₁ receptorhoz, az NKA az NK₂ receptorhoz és az NKB pedig az NK₃ receptorhoz kötődik legnagyobb affinitással. A tachykininiket prekursor gének kódolják: a preprotachykinin-A gén (*Tac1*) terméke az SP és az NKA-, a preprotachykinin-B géné (*Tac3*) az NKB. Tachykininek elsősorban mint KIR peptidek ismertek, az SP és NK₁ receptora kulcsfontosságú szerepet játszanak a krónikus fájdalomhoz hozzájáruló gerincvelői wind up mechanizmusban. Jelentős számú kutatás vizsgálta az NK₁ receptor antagonisták

fájdalomcsillapító szerepét, azonban ezen vegyületeket a klinikai vizsgálatok nem találták hatásosnak, jelenleg hányáscsillapítóként használhatók(12). Ezt követően a tachykininek számos, perifériás szövetekben betöltött szerepére is fény derült, majd 2000-ben egy dominánsan perifériás tachykinin, a hemokinin-1 (HK-1) is fedezésre került.

A HK-1-et a preprotachykinin-C gén (*Tac4*) kódolja és rendkívüli hasonlóságot mutat az SP-hez, egerekben 11-ből 6 aminosavuk megegyezik. A *TAC4* gén emberekben több peptide is kódol, ezek a humán (h)HK-1, a hHK-1(4-11) és az endokinin A, B, C és D. Bár teljes agonista az összes tachykinin receptoron, legnagyobb affinitással a NK₁ receptorhoz kötődik, ami szerteágazó biológiai hatásokhoz vezet, mivel a receptornak több izoformája létezik, és számos jelátviteli utat is tud aktiválni. Ezen túl felmerült egy még nem azonosított célmolekula létezése, mivel a HK-1 hiányos és NK₁ receptor hiányos egerek bizonyos betegség modellekben másképp viselkednek. Az utóbbi években, a Mas-rokon G protein kapcsolt receptorok (Mrgpr) merültek fel, mint lehetséges célpont. Régebben kifejlesztett NK₁ receptor antagonisták, mint az aprepitant, egerekben mind a NK₁ receptort mind a Mrgpr-t gátolni tudják, emberekben viszont nem, ezzel szemben az újabb antagonisták az emberi MRGPR gátlására is képesek(13). Az irodalmi adatok, melyek leírják az Mrgp receptorok előfordulását primér szenzoros neuronokon és hízósejteken, valamint a szerepüket a nocicepcióban (14), magyarázhatják a NK₁ receptor antagonistá fájdalomcsillapítók hatástalanságát emberekben. A HK-1 egér asztma modellben NK₁ receptoron át járul hozzá asztmához, míg emberi hízósejteken MGPR-en át hatott(15), így felmerült a lehetősége, hogy a MGPR lehet a HK-1 hiányzó célmolekulája.

A többi tachykininnel szemben a HK-1 elsősorban perifériás peptidként ismert. A HK-1 alacsony szinten expresszálódik az agyban, az SP a domináns tachykinin, azonban a kisagyban a HK-1-ből található nagyobb, és SP-ből kisebb mennyiség(16) hasonlóan a tüdőhöz, léphez, veséhez és mellékveséhez. Ahogy neve is mutatja, a HK-1 a csontvelőben játszik fontos szerepet, myeloid és lymphoid prekursor sejtekben expresszálódik (monocitákban, makrofágokban, dendritikus sejtekben, T és B sejtekben(17, 18). Ez az expressziós mintázat magyarázható a promóter régió speciális regulációs mechanizmusával, illetve azzal, hogy a NFκB hozzájárul *Tac4* transzkripció serkentéséhez T sejtvonalakban(19). A HK-1 segíti a B sejtek átalakulását, érését (20)(21),

valamint szerepet játszik a T sejtek érésében, fejlődésében, túlélésében(22). A HK-1 serkenti az IL1 β , IL6, TNF- α , és IL23 termelését is(23).

Felfedezése óta a HK-1 KIR-ben betöltött szerepére is fény derült. A HK-1 (az irodalmi adatok többsége alapján) nociceptív szerepet tölt be, és néhány jól ismert neurotranszmitterrel (opioidok, glutamát) is kölcsönhatásba lép(24)(25). Ezen túl a HK-1 potenciózni tudja a TRPV1 aktivációját és felfüggeszti a TRP melastatin 8 (TRPM8) közvetítette hideg reakciót(26). Magas HK-1 szintet mutattak ki fibromialgiás betegek vérében(27), amely egy centrális és perifériás mechanizmusokat magába foglaló, fájdalommal járó kórkép(28). Felmerült, hogy a HK-1 agyban jellemző N-terminális acetilációja növelheti a hatásereőségét(29).

1.3. Arthritisz

A krónikus gyulladással és fájdalommal járó reumatoid arthritisz (RA) a leggyakoribb autoimmun ízületi betegség. Bár a gyulladást kordában lehet tartani NSAIDokkal, szteroidokkal, betegségmódosító reumaellenes gyógyszerekkel (DMARD) és biológiai terápiával(30), a fájdalmat gyakran nem szüntetik meg ezek a szerek(31). Az ízületeket gazdagon behálózzák a kapszaicin-érzékeny idegvégződés(32) amik, egyebek közt, expresszálnak TRPA1 és TRPV1 ioncsatornákat amiket számos gyulladással mediátor képes aktiválni(8). A világon számos kutatás vizsgálja a gyulladással fájdalmat centrálissá alakító szenitizációs mechanizmusokat, amik hozzájárulnak a tartós ízületi fájdalomhoz (33). Ezen mechanizmusok felderítését akadályozza, hogy az emberi betegséget nem lehet teljességében egy állatmodellel utánozni, ezért az egyetlen modell alapján levont következtetések nem feleltethetők meg egészében a humán RA-szel(34). A szenorosvaszkuláris-immun folyamatokban szerepet játszó endogén molekulák tanulmányozása fontos a kulcsmediátorok megtalálásában, illetve a új gyógyszer-molekulák tervezésében.

1.4. Neuropátiás fájdalom

Fájdalom számos okból (trauma, gyulladás, daganatos vagy metabolikus megbetegedések) kialakulhat, de egyik gyakran rokkantsághoz is vezető forma, mely terápiásan is nagy kihívást jelent, a neuropátiás fájdalom, ami tipikus tünete lehet az előrehaladott cukorbetegségnek, bizonyos genetikai betegségeknek és az idegi sérülésnek(35). A neuropátia oka lehet centrális (gerincvelő vagy agy sérülése) vagy perifériás károsodás(36). Gliózis is kísérheti, melynek során

mikroglia és asztrocita sejtek aktiválódhatnak a károsodás helyén vagy a gerincvelőben az ideg centrális végződésénél(37). Neuropátiás fájdalom kezelésében az NSAIDok hatástalanok, az opioidok pedig csak korlátozottan alkalmazhatóak, helyettük adjuváns analgetikumokat használnak (triciklikus antidepresszánsok, antiepileptikumok), melyeknek időnként súlyos mellékhatásaik lehetnek(38), sokszor a kialakult hatás nem kielégítő, sok a terápia-rezisztens beteg(39). A neuropátiás fájdalom kezelése továbbra is megoldásra vár, a háttérben álló mechanizmusok felderítése fontos lenne új gyógyszer-célpontok meghatározásában.

1.5. T sejt-mediált bőrgyulladások: allergiás kontakt dermatitisz és pszoriázis

Az allergiás kontakt dermatitisz egy IV-es típusú késői hiperszenzitív reakció, ami 2 fázisban alakul ki. A kontakt allergén általában egy kis molekula, haptén, ami a bőrbe jutva fehérjékhez kötődik. Az első fázisban, a szenzitizáció során a haptén-protein konjugátumot Langerhans sejtek vagy dermális dendritikus sejtek felveszik, és a nyirokcsomóba szállítva T sejteknek bemutatják(40). A második fázisban, a második allergén expozíció után, ezek a T limfociták aktiválódnak, ami a tünetek kialakulásához vezet. Th1 és Th2 sejtek is részt vehetnek a folyamatban(41). Ezt a patológiai folyamatot az idegrendszer is befolyásolja, a bőrben található idegi TRPA1 és NK₁ receptor is szerepet játszanak az idegi és immun reakciók szabályozásában(42, 43). A terápiás lehetőségek korlátozottak, az allergén kerülése mellett lokális szteroidok, antihisztaminok alkalmazhatóak(44), ezért fontos lenne új terápiás célpontok azonosítása.

A pikkelysömör egy TH1 sejtek által mediált autimmún folyamat ami jellegzetes bőrtünetekkel jár(45). Dermális dendritikus sejtek stimulálják a Th17 és Tc17 sejtek migrációját a bőrbe, ahol IL17 és IL22 citokineket termelnek, az IL17 által mediált neutrophil beszűrődés gennyesedéshez vezethet(46). A dendritikus sejtek a bőrben közeli kapcsolatban vannak az idegvégződésekkel, bizonyos idegek gátlása javíthat a pikkelysömör tüneteiben(47). SP és NKA és receptoraik megtalálhatók a pikkelysömörös bőrbioopsziákban immun sejteken, illetve NKA idegekben(48). Psoriasis kezelésére számos lehetőség áll rendelkezésre: lokális és szisztémás immunszuppresszív szerek, D vitamin analógok, keratolitikumok, illetve nem farmakológiai módszerek, mint fényterápia(49), mégis vannak nehezen kezelhető betegek, így a patomechanizmus további felderítése fontos lenne újabb terápiás lehetőségek kifejlesztése érdekében.

2. Célkitűzések

1. HK-1 szerepének meghatározása akut és krónikus ízületi gyulladás egérmodelljeiben.
2. HK-1 szerepének elemzése primér szenzoros idegsejtkultúrákon.
3. HK-1 hatásainak felderítése akut fájdalom és krónikus traumás mononeurpátia modellekben.
4. HK-1 szerepének vizsgálata T sejt-mediált autoimmun bőrgyulladás modelljeiben.

3. Kísérleti modellek és módszerek

3.1. Kísérleti állatok

A kísérleteket hím vagy nőstény *Tac1* (*Tac1*^{-/-}), *Tac4* (*Tac4*^{-/-}) génhíányos (KO), NK₁ receptor génhíányos (*Tacr1*^{-/-}) egereken és C57Bl/6 vad típusú (WT) (8–12 hetes, 20–30 g) egereken végeztük. Az egereket a PTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet állatházában tenyésztettük és tartottuk standard körülmények között. Az altatást intraperitoneális ketamin és xylazin (100 mg/kg és 10 mg/kg) adásával végeztük. A kísérletező a vizsgálatokat vakon végezte. A kísérletek a hatályos jogszabályoknak megfelelően a PTE MÁB jóváhagyása után lettek végrehajtva (BA 02/2000-9/2011), (BA 02/2000–2/2012), (BAI/35/55-76/2017).

3.2. Kísérleti modellek

3.2.1. Arthritis

Az ízületi gyulladást 3 különböző mechanizmusú, egy krónikus és kettő akut modellben vizsgáltuk. Krónikus szérumsztransfer artritist K/BxN egerek artritogén szérumának beadásával idéztünk elő, a méréseket az anyagadást követő 3 hétben végeztük. A kontroll egerek nem-artritogén (BxN)-szérumot kaptak. Akut artritist hízósejt triptáz (mast cell tryptase, MCT) helyi térdízületi alkalmazásával váltottunk ki altatásban, a méréseket az anyagadást követő 6 órában végeztük. A harmadik modellben komplett Freund adjuváns térdízületi alkalmazásával váltottunk ki, mely után a méréseket 24 óráig végeztük.

3.2.2. *In vitro* primér szenzoros neuron kísérletek

Újszülött NMRI egerek trigeminális ganglionjaiból vett neuronokból készült sejt kultúrán végeztük a kísérleteket. Intracelluláris szabad kalciumot fluoreszcens indikátor fura-2 AM alkalmazásával mértünk különböző körülmények között. A HK-1 sejtaktiváló hatását vizsgáltuk különböző agonisták jelenlétében, KO egerek neuronjain és Ca²⁺-mentes médiumban. Vizsgáltuk a HK-1 és az SP hatását a kapszaicin által kiváltott deszenzitizációra.

3.2.3. Akut és krónikus, neuropátiás fájdalom

Szubkután 2,5% formalin injekcióval szomatikus nocifenzív viselkedést váltottunk ki. A beadás utáni 45 percben a nocifenzív reakciót (láb emelése, rázása, nyalogatása) 2 fázisban számoltuk. Intraperitoneális 0,6% ecetsav adásával kiváltott akut viscerális fájdalomelhárító viselkedést váltottunk ki, a jellegzetes vonagló mozdulatokat az adás utáni 30 percben számoltuk. Intraplantáris reziniferatoxin (RTX) adásával kiváltott akut neurogén gyulladást vizsgáltunk 24 órán át mechanonociceptív és hőküszöb mérések segítségével. Neuropátiás fájdalmat a jobb n. ischiadicus részleges lekötésével idéztünk elő (partial sciatic nerve ligation, PSL). Mechanonociceptív küszöböt és a hidegtűrést egy héten át vizsgáltuk, utána a gerincvelőt és agyat immunhisztokémiai módszerrel vizsgáltuk, a gerincvelőben és az idegyöki dúcban (dorsal root ganglion, DRG) a *Tac4* mRNS szintjét pedig PCR vizsgálattal mértük.

3.2.4. Autoimmun bőrgyulladás

Allergiás kontakt dermatitist 2% oxazon adásával váltottunk ki fülön. A vizsgálatokat a fülkezelés utáni 3 napban végeztük, minden nap szövetmintát vettünk további feldolgozáshoz. Az ellenoldali fület etanollal kezeltük kontrollként. Pikkelysömörszerű gyulladást imiquimod tartalmú Aldara krémmel váltottunk ki a hátbőrön, a kezelést és a vizsgálatokat 4 napon át folytattuk. Szövetmintát az első kezelés után 24 és 96 órával gyűjtöttünk. Az ellenoldali hátbőrt vazelinnel kezeltük kontrollként.

3.3. Mérési módszerek

3.3.1. Fájdalom mérése

A mechanonociceptív küszöböt dinamikus plantáris aeszteziométerrel mértük (DPA; Ugo Basile 37000) a beavatkozások előtt (a kiindulási küszöb meghatározása céljából), illetve után. A

hőkülönböztetést emelkedő hőmérsékletű forró lappal vizsgáltuk (IITC Life Sciences). A hidegtűrést 0°C-os vízből történő lábkihúzási látencia mérésével határoztuk meg. A lábduzzadást plethysmometer (Ugo Basile 7140) segítségével számszerűsítettük. Ezeknél a méréseknél a kezelés utáni értékeket a kiinduláshoz képest mért változás %-aként ábrázoltuk.

3.3.2. Állapotfelmérő vizsgálatok

Testtömeget mértük az általános jólét paramétereként, a tömegvesztést %-ban fejeztük ki a kiindulási értékhez képest. Az ízületi funkcióvesztés megítélésére rács tesztet végeztünk, amely során az állatok azon képességét mértük, hogy mennyi időt képesek egy vízszintes rácson kapaszkodva eltölteni. Az artritisz súlyosságát szemikvantitatív vizuális skálával számszerűsítettük.

3.3.3. Motoros koordináció mérése

A motoros koordinációt az emelkedő fordulatszámú rotarod eszközzel követtük (Ugo Basile, Comerio, Italy).

3.3.4. Fül- és bőrvastagság mérése

A fül- és bőrvastagságot mikrométer segítségével mértük (Moore and Wright, Sheffield, England).

3.3.5. *In vivo* képalkotás

A mieloperoxidáz (MPO)-aktivitást és plazmaextravazációt IVIS Lumina II instrument géppel (PerkinElmer) mértük altatott állatokon. Bőrperfüziót lézer Speckle segítségével mértük.

3.3.6. Szöveti festés

Az ízületeket Safraninnal festettük meg a fibroblaszt proliferáció, leukocita invázió, illetve szinóviális hiperplázia és kollagén depozíció számszerűsítéséhez, mindegyik paramétert 0-3 pontoztuk súlyosság alapján. Immunohisztokémiai festést központi idegrendszeri szöveteken végeztünk. Iba1 fehérje jelölésével mikroglia sejteket, GFAP jelöléssel asztrocitákat, illetve FosB fehérje jelölésével krónikus stressz által kiváltott neuronális aktivációt vizualizáltunk. Az immunopozitív sejteket a fájdalomhoz köthető régiókban mikroszkóp (Nikon Microphot FXA) és Inform szoftver (Massachusetts, USA) segítségével értékeltük ki. A vizsgált területeket Paxinos and Franklin egér agy atlasz alapján azonosítottuk. A *Tac4* mRNS-t a bőrben RNAscope *in situ* hibridizációs módszerrel mutattuk ki.

3.3.7. Molekuláris biológiai módszerek

Az L3-L5 ágyéki csigolyákat és a hozzájuk tartozó DRG-eket 6 nappal a PSL műtét után eltávolítottunk WT egerekből. A szövetmintákat gyorsfagyasztottuk szárazjégen, később kivontuk belőlük az RNSt, és a *Tac4* mRNS-t kvantifikáltuk glucuronidáz beta (*Gusb*(50) referencia génhez viszonyítva. ELISA módszert alkalmaztunk az NGF expresszió meghatározásához, az eredményeket pg/g szövetként adtuk meg. A fül és bőr citokin szintjeit luminex immunoassay segítségével kvantifikáltuk.

3.4. Statisztikai analízis

A kezeléseket nem randomizáltuk ketrecen belül, hogy a kontroll egerek ne bántásák a kezelt egereket. Az eredményeket átlag \pm SEM értéként adtuk meg csoportonként $n = 4-16$ egérrel. Az ábraalírásban megjelölt módszerrel GraphPad Prism 8 szoftverrel végeztük, illetve az immunohisztokémiai eredményeket a nagyobb csoportszám miatt faktoriális ANOVA-val elemeztük (TIBCO Inc., Palo Alto, USA). Minden esetben $p < 0.05$ értéket fogadtuk el statisztikailag szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. Artritisz

4.1.1. K/BxN artritisz

4.1.1.1. A HK-1 szerepet játszik az ízületi gyulladáshoz korai és késői szakaszában fennálló mechanikai hiperalgégiában, hőküszöb csökkenésben és ödémában, míg az NK₁ receptor nem

A legnagyobb mechanonociceptív küszöbcsökkenés a 11. napon jött létre WT egerekben, illetve a 13. napon *Tac4*^{-/-} egerekben, ami mindkét csoportban a 21. napra szűnt meg. A *Tac4*^{-/-} csoportban szignifikánsan kisebb mechanikai hiperalgézia alakult ki az egész kísérlet során, mind a korai gyulladással, mind a 14. nap után tapasztalható késői centrális típusú fájdalom során. A lábödéma a 8. napon érte el a maximumot WT és *Tac4*^{-/-} állatoknál egyaránt, mely a 14. napra csökkent a kiindulási értékre. A lábduzzanat szignifikánsan kisebb volt *Tac4*^{-/-} állatok esetében a kísérlet első 8 napján. Mechanikai hiperalgézia, hőküszöb csökkenés és láb ödéma nem mutatott különbséget *Tacr1*^{-/-} egerekben a WT csoporthoz képest. Egyik KO csoportnál se tapasztaltunk a

WT-hez képest eltérést hidegtűrésben, rács tesztben, testtömeg változásban és artritisz súlyossági pontszámában.

4.1.1.2. *A HK-1 megakadályozza az MPO-emelkedést K/BxN artritiszben*

Az MPO-aktivitás szignifikánsan megnőtt már a kísérlet 2. napján *Tac4*^{-/-} egerekben, míg WT egerekben csak a 6. napon. Mindkét csoportban hasonlóan fokozódott a plazmaextravazáció mértéke.

4.1.1.3. *A HK-1 rontja gyulladós elváltozásokat*

A szövettani szemikvantitatív pontozás alapján *Tac4*^{-/-} egereknek szignifikánsan kisebb eltérései voltak mint WT társaiknak.

4.1.1.4. *Tac4* mRNS expresszió DRG-ben és gerincvelőben

Tac4 mRNS expresszió volt látható a 6. napon intakt, BxN- és K/BxN kezelt egerek DRG-jében, mely csökkent artritiszes állatok mintáiban, azonban ez a változás nem volt szignifikáns. . A gerincvelőben nem találtunk detektálható *Tac4* mRNS-t.

4.1.2. *A HK-1 hozzájárul a fájdalomhoz és ödémához akut MCT-artritiszben*

Mechanikai hiperalgémia 2 órával, térdduzzanat 4 órával a kezelés után alakult ki WT egerekben, mindkét paraméter enyhébb volt *Tac4*^{-/-} egerekben. Emelkedett véráramlás az első 40 percben volt mérhető, ami nem különbözött géniütött állatokban.

4.1.3. *A HK-1 mechanikai hiperalgémiaát és térdduzzanatot vált ki, csökkenti az MPO-termelést, az NK₁ receptor azonban nem játszik szerepet akut CFA-artritiszben*

A WT állatokban jelentős mechanikai hiperalgémia és térdödéma volt detektálható, ami *Tac4*^{-/-} egerekben szignifikánsan enyhébbnek bizonyult 24 óránál, *Tacr1*^{-/-} állatokban nem tapasztaltunk eltérést. *Tac4*^{-/-} egerekben szignifikánsan megnőtt az MPO-aktivitás 24 óra után.

4.2. *In vitro* primér szenzoros neuron kísérletek

4.2.1. *A HK-1 közvetlenül képes aktiválni a primér szenzoros neuronokat*

A primér szenzoros neuron tenyészetben alkalmazott 1 μ M HK-1 Ca²⁺-beáramlást váltott ki a sejtek 26.39 \pm 4.5%-ában, míg 500 nM HK-1 ill. 500 és 1 μ M SP-nek nem volt ilyen hatása. Az NK₁ receptor antagonistá CP99994 nem hatott a HK-1 válaszra, ahogy az NK₁ receptor génjének

kiütése sem. Sem a G-protein kapcsolt receptor (GPCR) blokkoló pertussis toxin (PTX) sem a TRPV1 antagonistá AMG8910 vagy a TRPA1 antagonistá HC 030031 nem tudta megakadályozni a HK-1-válasz kialakulását. Ca^{2+} -mentes médiumban nem alakult ki a HK-1-válasz.

4.2.2. A HK-1 és az SP gátolja az ismételt kapszaicin által kiváltott neuron deszenzitizációt

Az első 330 nM kapszaicin kezelés egy átmeneti Ca^{2+} -akkumulációt váltott ki, ami minden következő kapszaicin adásnál egyre gyengébb lett a kialakuló TRPV1 deszenzitizáció következtében. Ha 500 nM HK-1-t vagy SP-t adtunk a második kapszaicin stimulus után, a további kapszaicin-válaszok nem csökkentek, ki tudott alakulni a teljes válasz.

4.3. Neuropátia és akut fájdalom

4.3.1. Akut fájdalom

4.3.1.1. *A HK-1, az SP/NKA és az NK_1 receptor hozzájárulnak az ecetsav által kiváltott viszcerális fájdalomhoz*

A vonagló mozgások száma szignifikánsan csökkent $Tac4^{-/-}$ egerekben a 2. megfigyelési fázisban, $Tac1^{-/-}$ és $Tacr1^{-/-}$ egerekben pedig a 2. és 3. fázisban is.

4.3.1.2. *Az SP/NKA hozzájárul a formalin által kiváltott nocifenzív viselkedéshez*

A szomatikus nocifenzív válasz csökkent $Tac1^{-/-}$ egerekben a WT csoporthoz képest a második fázisban, míg $Tacr1^{-/-}$ és $Tac4^{-/-}$ egereknél nem tapasztaltunk eltérést.

4.3.1.3. *A HK-1, az SP/NKA és az NK_1 receptor hozzájárulnak az RTX-indukálta hő- és mechanikai hiperalgéziához*

Enyhébb hő- és mechanikai hiperalgézia volt látható $Tac4^{-/-}$, $Tac1^{-/-}$ és $Tacr1^{-/-}$ egerekben RTX-adás után. A legmarkánsabb javulás mechanikai hiperalgézia esetén a $Tac4^{-/-}$ egerkeben, illetve hő hiperalgézia esetén a $Tac1^{-/-}$ egerkeknél volt tapasztalható.

4.3.2. Neuropátia

4.3.2.1. *Roszbabb motoros koordináció HK-1 hiányában*

A motoros koordináció nem romlott WT és $Tac4^{-/-}$ egerekben a PSL operáció következtében, de a $Tac4^{-/-}$ egerek a műtéttől függetlenül rosszabbul teljesítettek, ami a 10. napon vált szignifikánssá.

4.3.2.2. *Enyhébb mechanikai hiperalgéria és hideg tolerancia csökkenés HK-1 hiányában*

Tac4^{-/-} egerekben mind a PSL-indukálta mechanonociceptív küszöbcsökkenés, mind a hidegtolerancia csökkenése enyhébb volt a kísérlet során WT egerekhez képest.

4.3.2.3. *Emelkedett perifériás NGF-szint neuropátiában HK-1 hiánya esetében*

Az NGF-szint a láb homogenizátumokban szignifikánsan kisebb volt intakt *Tac4*^{-/-} egerekben a WT állatokhoz képest. Neuropátia kialakulásakor a 7. napon az NGF-szint nem változott WT egerekben, míg KO egerekben kétszeresére nőtt.

4.3.2.4. *Mikroglia sejtek és asztrociták számának emelkedése HK-1 hiányában*

A gerincvelői hátsó szarv I-II laminájában neuropátia hatására szignifikánsan megnőtt a mikroglia sejtek száma, míg *Tac4*^{-/-} egerekben nem változott. Az asztrociták száma mindkét oldalon csökkent neuropátia kialakulásakor *Tac4*^{-/-} egerekben. A krónikus neuronális aktivációs marker FosB-pozitív sejtek száma nem változott. Az asztrociták száma kisebb volt a periaqueductális szürkeállomány (PAG)-ban intakt *Tac4*^{-/-} egerekben. Más különbség nem volt tapasztalható a PAG, amygdala és szomatoszenzoros kortex esetében.

4.4. Bőrgyulladás modellek

4.4.1. Oxazonon-indukálta allergiás kontakt dermatitisz

4.4.1.1. *Csökkent fülduzzanat HK-1 hiányában*

Az oxazonon oldat alkalmazása után már 24 órával kifejezett duzzadás volt tapasztalható WT és *Tac4*^{-/-} egereknél. Ebben az időpontban a *Tac4*^{-/-} egereknél szignifikánsan kisebb volt a duzzadás. Az oldószerezrel kezelt fül nem mutatott változást egyik csoportnál sem.

4.4.1.2. *Az MPO-aktivitás és a plazmaextravazáció nem változott HK-1 hiányában*

Az MPO-aktivitás és a plazmaextravazáció mértéke is megemelkedett 24 órával a kezelés után mindkét csoportban, de nem tapasztaltunk különbséget WT és *Tac4*^{-/-} egerek között.

4.4.1.3. *Emelkedett IFN γ és IL4 HK-1 hiányában, Tac4 mRNS lokalizálása a hajhagymákban*

Az IFN γ és az IL4 szintje 24 óra után szignifikánsan nagyobb mértékben emelkedett meg *Tac4*^{-/-} egerekben. A TNF α -szint 24 óra után kezdett el emelkedni, és 72 óra alatt érte el maximumát, azonban HK-1 hiányában nem mutatott eltérést. Az IL2- és IL5-szint 24 óra után emelkedett, és a kísérlet összes időpontjában magas maradt. HK-1 hiányában ezek a citokinek ugyancsak nem mutattak eltérést.

Tac4 mRNS upreguláció nem volt tapasztalható a kezelés hatására. Az összes kezelési csoportban specifikus *Tac4*-jel volt látható a hajhagymában.

4.4.2. Aldara-indukálta pszoriáziform bőrgyulladás

4.4.2.1. *Enyhébb bőrduzzanat és véráramlás-fokozódás 96 óránál HK-1 hiányában*

Bőrvastagodás már az első kezelés után 24 órával tapasztalható volt. Bár a *Tac4*^{-/-} és *Tacr1*^{-/-} egerek értékei végig a WT-értékek alatt voltak, ez statisztikailag szignifikáns mértéket csak a *Tac4*^{-/-} egerek esetében és csak 96 óránál érte el. *Tac4*^{-/-} egerekben szignifikánsan csökkent a detektálható véráramlás 96 óránál.

4.4.2.2. *Tac4 mRNS lokalizálása a hajhagymában*

Tac4 mRNS akkumulációja nem volt tapasztalható kezelés hatására. Mindegyik kezelési csoportban *Tac4*-specifikus jel volt látható a hajhagymában. Nem volt szignifikáns különbség az IL1 β és TNF α szintjében sem HK-1, sem NK₁ receptor hiányában.

5. Megbeszélés

Kimutattuk, hogy a HK-1 fontos mediátor az ízületi gyulladás során kialakuló centrális és perifériás szenzitizációban, ami független az NK₁ receptortól a K/BxN és CFA modellekben. A HK-1 hozzájárul az ödémaképződéshez, szövettanilag kimutatható károsodásokhoz és megakadályozza az MPO-emelkedést. A K/BxN modellünkben a gyulladás következtében kialakuló ödéma megszűnése után még egy hétig fennállt a mechanikai hiperalgéria, ami már a centrális szenzitizációnak tudható be, a HK-1 pedig mindkét típusú fájdalomhoz hozzájárult NK₁ receptortól függetlenül. Más gyulladásos paraméterek, mint a szövettani eltérések is enyhébbek voltak HK-1 hiányában. A K/BxN kísérlet

2. és 4. napján a HK-1 hiánya nem befolyásolta a plazmaextravazációt, de ez csak egy komponense a kialakuló lábtérfogat növekedésnek.

A HK-1 hiányában korábban következett be az MPO-emelkedés, amit neutrofilek és makrofágok termelnek, és szöveti károsodást és gyulladást idéz elő. Irodalmi adatok szerint bizonyos körülmények között a korai MPO emelkedésnek protektív szerepe lehet, melynek mechanizmusa még nem teljesen tisztázott(51). Mivel neutrofil sejtek termelnek HK-1-et is, így az interakció az MPO enzimmel is lehetséges.

Akut CFA-arthritisben a HK-1 NK₁ receptortól függetlenül járult hozzá a fájdalomhoz és ödémához. Az MCT hízósejtekből szabadul fel, és gyulladást idéz elő(52) miközben szenzoros neuronokon is hatást fejt ki(53). A HK-1 szerepet játszott a mechanikai hiperalgéziában és ödémában feltehetően NK₁ receptoron keresztül, de a véráramlás-fokozódást nem tudta befolyásolni(53). Ezek alapján megállapíthatjuk, hogy a HK-1 nem csak immunsejteken, hanem szenzoros neuronokon is kifejti hatását ízületi gyulladás egérmódeljeiben, bizonyos esetekben NK₁ receptortól függetlenül.

In vitro kísérleteinkben a HK-1-nek NK₁ receptortól és PTX-érzékeny receptoroktól függetlenül kialakult a hatása, Ca²⁺-mentes környezetben viszont nem. Ez egy ioncsatornán át közvetített hatást jelent, de nem TRPV1- vagy TRPA1-által mediálva, mivel ezek gátlóinak jelenlétében is kialakult a hatás. A kapszaicin ismételt adása neuronokon gyengülő intenzitású Ca²⁺ beáramlást eredményez a TRPV1 receptorok deszenzitizációja révén(54), mind a HK-1, mind az SP képes volt kivédeni ezt a hatást. A HK-1 neuron aktiváló hatását leírták már kolinerg hippocampalis neuronokban is, ahol posztzinaptikus tetrodotoxin-rezisztens módon hatott, bár ez a hatás megtartott volt Ca²⁺-mentes médiumban(55).

Talpban a TRPV1 agonista RTX-szel történő neurogén gyulladás kiváltásakor láthattuk, hogy a mechanikai- és hő hiperalgézia javult HK-1, NK₁ receptor és SP/NKA hiányában. Ez megerősíti *in vitro* adatainkat, miszerint a HK-1 és az SP jelenléte fenntartja a TRPV1 agonista iránti érzékenységet a szenzoros neuronokon. Formalin beadása utáni 2. fázisban a gyulladásos mediátorok felszabadulása során csak az SP/NKA játszott szerepet, az első fázisban a neuronok

aktivációjában pedig egyik sem. Az SP/NKA és az NK₁ receptor viscerális fájdalomban betöltött szerepe volt kimutatható, míg a HK-1-nek csak a 2. fázisban volt hatása.

PSL-indukálta neuropátiás fájdalomban a HK-1 szerepet játszott mechanikai hiperalgégiában és a hidegtűrés csökkenésében, ezzel szemben a többi fehérje hiánya nem okozott különbséget (56). Az NGF-szint HK-1 hiányában történő emelkedésének paradoxonját magyarázhatja, hogy bár az NGF fájdalomkeltő anyag, közben trófikus faktorként is szerepe van az idegek fiziológiájában, és hozzájárul az idegek regenerációjához.

Immunhisztokémiai vizsgálataink bizonyították, hogy a HK-1 fontos szerepet játszik a gerincvelői mikroglia aktivációban. Irodalmi adatok is alátámasztják a HK-1 és a mikrogliák kapcsolatát: a mikrogliák aktivációja során a HK-1 szintje upregulálódik (57); valamint a mikrogliák minociklinnel történő gátlása csökkenti a HK-1 termelést, illetve patkányok fájdalomreakcióját is (58).

A PSL-műtét nem befolyásolta a motoros koordinációt, HK-1 hiányában mégis rosszabbul teljesítettek az egerek. Ez egybevág azon korábbi adatokkal, miszerint a HK-1 kifejezetten magas expressziós szintet mutat a kisagyban (16). Ezzel elsőként szolgáltatunk funkcionális adatot a kisagy magas HK-1 expressziójával kapcsolatban. Emellett fontos kiemelni, hogy a kisagyban található a legalacsonyabb NK₁ receptor expresszió az agyi régiók közül (59).

Eredményeink alapján a HK-1-nek kevésbé jelentős, de egyértelműen kimutatható szerep van oxazolonnal kiváltott allergiás kontakt dermatitiszben az első 24 órában. Ebben az időpontban a fülduzzanat is enyhébb volt HK-1 hiányában, illetve emelkedett az IFN γ és IL4 citokinek szintje az enyhébb reakció ellenére. Bár az IL4 promótere a Th2 irányú differenciálódásnak és allergiás reakciónak (60), mégis ismert, hogy enyhíteni tudja a gyulladást allergiás kontakt dermatitiszben (61). Ezen felül az IL4 neutralizálása emelheti az olyan gyulladást mediátorok termelését, mint az IFN- γ , IL2, IL12 p40 és IL1 β . Korábbi tanulmányban az NK₁ receptor hiánya markánsabb eltérést mutatott hasonló modellben (22, 43), ami fontos szerepet játszik a T sejtek funkciójában (22). Ezek a T sejtek a HK-1 mellett az SP termelésére is képesek, így valószínűsíthető, hogy a receptor egy agonistája jelentlétében is teljesíteni tudja funkcióját.

Pszoriaziform bőrgyulladás modellben csak HK-1 hiányában volt szignifikánsan kisebb a bőrduzzadás 96 óránál. A vérátáramlásban nem volt különbség WT és KO egerek között, ami

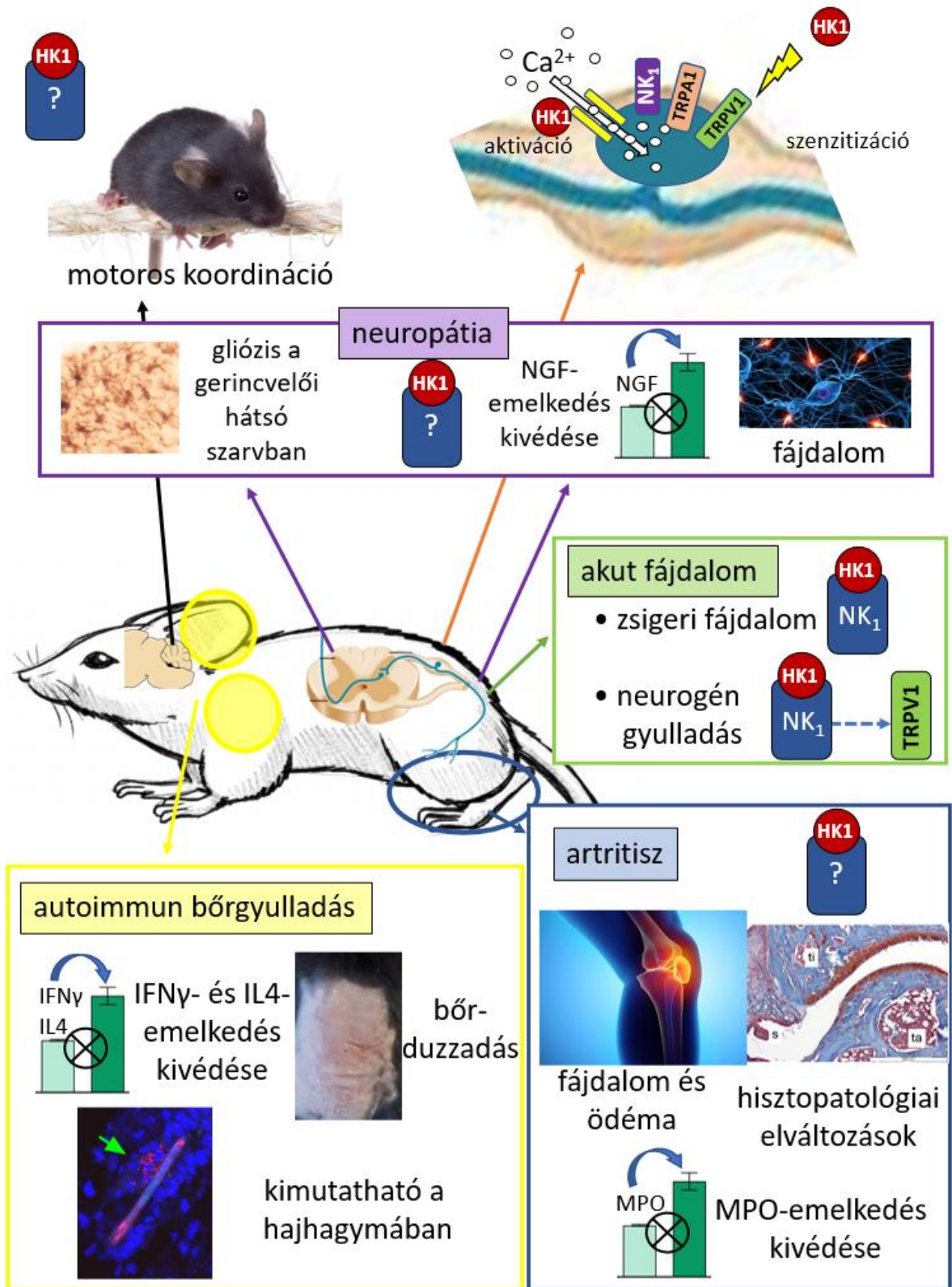
megegerősíti korábbi eredményeinket, miszerint a HK-1-nek kevésbé van szerepe vaszkuláris változásokban. A 96 óránál látható szignifikáns csökkenés a *Tac4*^{-/-} egerekben valószínűleg a fokozott hámlásnak tudható be, ami jelenlétében a gép kevésbé tudta detektálni a véráramlást. A pikkelysömör kialakulásában szintén fontos szerepe van a Th17 sejteknek, szorosabb összefüggésben van az IL23-al mint az IL2-vel. A T sejtek NK₁ receptor hiányában is funkcióképesek, a létrejövő apoptózis kivédhető IL2 adásával(22). A pikkelysömörös betegek bőrbioptáciájában nem csak az NK₁, hanem az NK₂ receptor is upregulálódott, illetve az NKA pozitív immun sejtek és idegrostok mennyisége is megnőtt(48). Ennek a komplex rendszernek tudható be, hogy a pikkelysömör ki tudott alakulni modellünkben HK-1 és NK₁ receptor hiányában is. A hajhagymákban a *Tac4* mRNS-t az ún. bulge régióban sikerült kimutatni hát- és fülbőrben is, ami a jelek szerint nem játszik szerepet a vizsgált bőrgyulladás modellekben. A bulge régiónál található a m. arrector pili csatlakozása, illetve epidermális őssejteket is tartalmaz(62)(63). A HK-1 kimutatása ezen a területen további kísérleti lehetőségeket vet fel.

Eredményeink bizonyítják a HK-1 komplex szabályozó szerepét különböző szenzoros-immun interakciókban ízületi gyulladásban és idegkárosodás-okozta neuroinflammációban. Pontos lokalizálása a szőrtüszőben szintén fontos új információt jelent. Jelen eredmények, illetve molekuláris hatásmechanizmusának valamint gyulladásban és fájdalomban betöltött szerepének további vizsgálatai igen hasznosak lehetnek egy későbbi gyógyszerfejlesztési folyamatban.

6. Összefoglalás és következtetések

A HK-1 szerepet játszik

- az NK₁ receptortól függetlenül arthritisz és gyulladás közvetítésében akut és krónikus modellekben, beleértve a késői centrális szenzitizációt, illetve megakadályozza az MPO-aktivitás emelkedését;
- a TRPV1 aktiváció által indukált akut neurogén gyulladásban, szomatikus és viscerális nocifenzív reakcióban az NK₁ receptoron keresztül;
- a primér szenzoros neuronok aktivációjában PTX-inszenzitív, NK₁ receptor-független, extracelluláris Ca²⁺-függő módon, illetve kapszaicin-okozta deszenzitizáció kivédésében;
- neuropátiás fájdalom kialakulásában és a hozzá társuló gliózisban a gerincvelő hátsó szarv I-II laminájában NK₁ receptortól függetlenül, miközben megakadályozza a perifériás NGF-emelkedést;
- a motoros koordinációban NK₁ receptortól független módon, amit alátámaszt a HK-1 magas, illetve az NK₁ receptor alacsony expressziója a kisagyban;
- a bőrduzzadásban pszoriáziform és allergiás kontakt dermatitiszes bőrgyulladás modellekben, miközben megakadályozza az IFN γ és az IL4 szintek emelkedését allergiás kontakt dermatitiszben. A HK-1 *Tac4* mRNS-ét a szőrtüsző bulge régiójában azonosítottuk.



7. Irodalomjegyzék

1. Murphy KR, Han JL, Yang S, Hussaini SMQ, Elsamadicy AA, et al. 2017. *Pain Physician*. 20(2):E257–68
2. Mansfield KE, Sim J, Jordan JL, Jordan KP. 2016. *Pain*. 157(1):55–64
3. Nalamachu S. 2013. *Am J Manag Care*. 19(14 Suppl):s261-266
4. Watson JC, Sandroni P. 2016. *Mayo Clin Proc*. 91(3):372–85
5. Goebel A. 2014. *Clin Exp Immunol*. 178(Suppl 1):39–41
6. Szolcsányi J. 2014. *Prog Drug Res*. 68:1–37
7. Szolcsányi J, Helyes Z, Oroszi G, Németh J, Pintér E. 1998. *Br J Pharmacol*. 123(5):936–42
8. Pinho-Ribeiro FA, Verri WA, Chiu IM. 2017. *Trends Immunol*. 38(1):5–19
9. Zengeler KE, Lukens JR. 2021. *Nature Reviews Immunology*, pp. 1–15
10. Aspelund A, Antila S, Proulx ST, Karlsen TV, Karaman S, et al. 2015. *Journal of Experimental Medicine*. 212(7):991–99
11. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, et al. 2015. *Nature*. 523(7560):337–41
12. Hill R. 2000. *Trends Pharmacol Sci*. 21(7):244–46
13. Azimi E, Reddy VB, Shade K-TC, Anthony RM, Talbot S, et al. *JCI Insight*. 1(16):
14. Tiwari V, Tiwari V, He S, Zhang T, Raja SN, et al. 2016. *Adv Exp Med Biol*. 904:87–103
15. Manorak W, Idahosa C, Gupta K, Roy S, Panettieri R, Ali H. 2018. *Respir Res*. 19(1):1
16. Duffy RA, Hedrick JA, Randolph G, Morgan CA, Cohen-Williams ME, et al. 2003. *Neuropharmacology*. 45(2):242–50
17. Klassert TE, Pinto F, Hernández M, Cadenas ML, Hernández MC, et al. 2008. *J Neuroimmunol*. 196(1–2):27–34
18. Nelson DA, Bost KL. 2004. *Front Biosci*. 9:2166–76
19. Tran AH, Berger A, Wu GE, Paige CJ. 2009. *Neuropeptides*. 43(1):1–12
20. Milne CD, Fleming HE, Zhang Y, Paige CJ. 2004. *Immunol Rev*. 197:75–88
21. Wang W, Li Q, Zhang J, Wu H, Yin Y, et al. 2010. *J Immunol*. 184(7):3590–97
22. Morelli AE, Sumpter TL, Rojas-Canales DM, Bandyopadhyay M, Chen Z, et al. 2020. *Cell Rep*. 30(10):3448-3465.e8
23. Cunin P, Caillon A, Corvaisier M, Garo E, Scotet M, et al. 2011. *J Immunol*. 186(7):4175–82
24. Fu C-Y, Kong Z-Q, Wang K-R, Yang Q, Zhai K, et al. 2005. *Brain Res*. 1056(1):51–58
25. Watanabe C, Mizoguchi H, Bagetta G, Sakurada S. 2016. *Neurosci Lett*. 617:236–39
26. Naono-Nakayama R, Sunakawa N, Ikeda T, Nishimori T. 2010. *Neuropeptides*. 44(1):57–61
27. Tsilioni I, Russell IJ, Stewart JM, Gleason RM, Theoharides TC. 2016. *J Pharmacol Exp Ther*. 356(3):664–72
28. Chinn S, Caldwell W, Gritsenko K. 2016. *Curr Pain Headache Rep*. 20(4):25
29. Deliconstantinos G, Barton S, Soloviev M, Page N. 2017. *In Vivo*. 31(5):991–98
30. Sparks JA. 2019. *Ann Intern Med*. 170(1):ITC1–16
31. McWilliams DF, Walsh DA. 2017. *Clin Exp Rheumatol*. 35 Suppl 107(5):94–101
32. Donaldson LF, McQueen DS, Seckl JR. 1995. *J Physiol*. 486 (Pt 2):473–82
33. Cao Y, Fan D, Yin Y. 2020. *Mediators Inflamm*. 2020:2076328
34. Krock E, Jurczak A, Svensson CI. 2018. *Pain*. 159 Suppl 1:S98–109
35. Dineen J, Freeman R. 2015. *Semin Neurol*. 35(4):458–68
36. Hammi C, Yeung B. 2020. *Neuropathy*. StatPearls Publishing
37. Marcello L, Cavaliere C, Colangelo AM, Bianco MR, Cirillo G, et al. 2013. *Eur J Pain*. 17(6):799–810
38. Watson JC, Dyck PJB. 2015. *Mayo Clin Proc*. 90(7):940–51
39. Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpää M, Hansson P, et al. 2010. *Eur J Neurol*. 17(9):1113-e88
40. Dhingra N, Gulati N, Guttman-Yassky E. 2013. *J Invest Dermatol*. 133(10):2311–14
41. Dearman RJ, Basketter DA, Kimber I. 1996. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 138(2):308–16
42. Liu B, Escalera J, Balakrishna S, Fan L, Caceres AI, et al. 2013. *FASEB J*. 27(9):3549–63

43. Bánvölgyi A, Pálinkás L, Berki T, Clark N, Grant AD, et al. 2005. *J Neuroimmunol.* 169(1–2):86–96
44. Nassau S, Fonacier L. 2020. *Med Clin North Am.* 104(1):61–76
45. Boehncke W-H, Schön MP. 2015. *The Lancet.* 386(9997):983–94
46. Conrad C, Gilliet M. 2018. *Clinic Rev Allerg Immunol.* 54(1):102–13
47. Riol-Blanco L, Ordovas-Montanes J, Perro M, Naval E, Thiriot A, et al. 2014. *Nature.* 510(7503):157–61
48. Amatya B, El-Nour H, Holst M, Theodorsson E, Nordlind K. 2011. *Br J Dermatol.* 164(5):1023–29
49. Armstrong AW, Read C. 2020. *JAMA.* 323(19):1945–60
50. Kecskés A, Pohóczky K, Kecskés M, Varga ZV, Kormos V, et al. 2020. *Int J Mol Sci.* 21(20):
51. Arnhold J, Flemmig J. 2010. *Arch Biochem Biophys.* 500(1):92–106
52. Kobayashi Y, Okunishi H. 2002. *Jpn J Pharmacol.* 90(1):7–11
53. Borbély É, Sándor K, Markovics A, Kemény Á, Pintér E, et al. 2016. *Inflamm Res.* 65(9):725–36
54. Balla Z, Szoke E, Czéh G, Szolcsányi J. 2001. *Acta Physiol Hung.* 88(3–4):173–96
55. Morozova E, Wu M, Dumalska I, Alreja M. 2008. *Eur J Neurosci.* 27(1):114–22
56. Botz B, Imreh A, Sándor K, Elekes K, Szolcsányi J, et al. 2013. *Peptides.* 43:105–12
57. Sakai A, Takasu K, Sawada M, Suzuki H. 2012. *PLoS One.* 7(2):e32268
58. Matsumura T, Sakai A, Nagano M, Sawada M, Suzuki H, et al. 2008. *Br J Pharmacol.* 155(5):767–74
59. Okumura M, Arakawa R, Ito H, Seki C, Takahashi H, et al. 2008. *J Nucl Med.* 49(11):1749–55
60. Schmidt-Weber CB. 2012. *Chem Immunol Allergy.* 96:120–25
61. Asada H, Linton J, Katz SI. 1997. *Journal of Investigative Dermatology.* 108(4):406–11
62. Pontén F, Ren Z, Nistér M, Westermark B, Pontén J. 1994. *J Invest Dermatol.* 102(3):304–9
63. Hoffman RM, Amoh Y. 2018. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 160:23–28

8 Publikációs lista

8.1 A dolgozat alapját képező publikációk:

Ágnes Hunyady*, Zsófia Hajna*, Tímea Gubányi, Bálint Scheich, Ágnes Kemény, Balázs Gaszner, Éva Borbély, Zsuzsanna Helyes; Hemokinin-1 is an important mediator of pain in mouse models of neuropathic and inflammatory mechanisms. *Brain Res Bull.* 2019 Apr;147:165-173. PMID: 30664920 DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.01.015

Éva Borbély*, **Ágnes Hunyady***, Krisztina Pohóczky, Maja Payrits, Bálint Botz, Attila Mócsai, Alexandra Berger, Éva Szőke, Zsuzsanna Helyes; Hemokinin-1 as a Mediator of Arthritis-Related Pain via Direct Activation of Primary Sensory Neurons. *Front Pharmacol.* 2021 Jan 13;11:594479. PMID: 33519457 PMCID: PMC7839295 DOI: 10.3389/fphar.2020.594479

8.2 Egyéb publikációk:

B Scheich, P Vincze, É Szőke, É Borbély, **Á Hunyady**, J Szolcsányi, Á Dénes, Zs Környei, B Gaszner, Zs Helyes; Chronic stress-induced mechanical hyperalgesia is controlled by capsaicin-sensitive neurones in the mouse. *Eur J Pain.* 2017 Sep;21(8):1417-1431. PMID: 28444833 DOI: 10.1002/ejp.1043

Éva Borbély, Maja Payrits, **Ágnes Hunyady**, Gréta Mező, Erika Pintér; Important regulatory function of transient receptor potential ankyrin 1 receptors in age-related learning and memory alterations of mice. *Geroscience.* 2019 Oct;41(5):643-654. PMID: 31327098 PMCID: PMC6885083 DOI: 10.1007/s11357-019-00083-1

Boglárka Kántás, Rita Börzsei, Éva Szőke, Péter Bánhegyi, Ádám Horváth, **Ágnes Hunyady**, Éva Borbély, Csaba Hetényi, Erika Pintér, Zsuzsanna Helyes; Novel Drug-Like Somatostatin Receptor 4 Agonists are Potential Analgesics for Neuropathic Pain. *Int J Mol Sci.* 2019 Dec 11;20(24):6245. PMID: 31835716
PMCID: PMC6940912 DOI: 10.3390/ijms20246245

Boglárka Kántás, Éva Szőke, Rita Börzsei, Péter Bánhegyi, Junaid Asghar, Lina Hudhud, Anita Steib, **Ágnes Hunyady**, Ádám Horváth, Angéla Kecskés, Éva Borbély, Csaba Hetényi, Gábor Pethő, Erika Pintér, Zsuzsanna Helyes; In Silico, In Vitro and In Vivo Pharmacodynamic Characterization of Novel Analgesic Drug Candidate Somatostatin SST 4 Receptor Agonists. *Front Pharmacol.* 2021 Jan 27;11:601887. PMID: 33815096
PMCID: PMC8015869 DOI: 10.3389/fphar.2020.601887

Cumulative impact factor of publications related to the thesis: 7.595

Impact factor of other publications: 11.772

Number of citations (MTMT): 36

Number of independent citations (MTMT): 21

Number of citations (Google Scholar): 41

9 Konferencia-szereplések listája

9.1 Nemzetközi konferenciák

Hemokinin-1 mediates neuropathic pain in a mouse model of traumatic neuropathy: role in spinal glia activation and peripheral NGF production

AMSE Congress, Pécs, Hungary, 2018.10.4-6., poster

Ágnes Hunyady, Eva Borbely, Balint Scheich, Agnes Kemeny, Balazs Gaszner, Zsuzsanna Helyes

Hemokinin-1 is an important mediator of arthritic and neuropathic pain in mouse models

11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin, Germany 2018.07.7-11., poster

Ágnes Hunyady, Eva Borbely, Balint Scheich, Agnes Kemeny, Balazs Gaszner, Zsuzsanna Helyes

Hemokinin-1 is an important mediator of arthritic and neuropathic pain in mouse models

14th International Medical Postgraduate Conference, Hradec Kralove, Czech Republic, 2017.11.23-24., oral presentation

Ágnes Hunyady, Eva borbely, Zsuzsanna Helyes

The effect of somatostatin 4 receptor agonists in mouse models of neuropathic pain, anxiety and depression-like behavior

FENS Regional Meeting, Pécs, Hungary, 2017.09.20-23., poster

Ágnes Hunyady, Eva Borbely, Boglarka Kantas, Erika Pinter, Janos Szolcsanyi, Éva Szőke, Zsuzsanna Helyes

9.2 Hazai konferenciák

A hemokinin-1 gyulladáskeltő szerepe pszoriáziform bőrgyulladás és allergiás kontakt dermatitisz egérmodelljeiben

FAMÉ 2019 - Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Anatómus Társaság, Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság, Magyar Élettani Társaság közös Vándorgyűlése

Budapest, 2019.06.05-08., előadás, **farmakológia szekció fődj**

Hunyady Ágnes, Helyes Zsuzsanna, Kemény Ágnes, Horváth Szabina, Horváth Ádám

A hemokinin-1 szerepet játszik krónikus traumás neuropátia kialakulásában centrális és perifériás mechanizmusokkal

Idegtudományi Centrum PhD/TDK konferencia, Pécs, 2018.11.22-23., előadás,

3. helyezés

Hunyady Ágnes, Borbély Éva, Helyes Zsuzsanna

Új típusú, szájon át adható szomatosztatin 4 receptor agonisták hatásának vizsgálata neuropátiás fájdalomra, szorongásra és depresszió-szerű viselkedésre egérmockekben

Magyarországi Fájdalom Társaság kongresszusa, Szeged, 2018.11.9-10., poszter

Hunyady Ágnes, Borbély Éva, Kántás Boglárka, Pintér Erika, Szolcsányi János, Helyes Zsuzsanna

Szomatosztatin 4 receptor agonisták vizsgálata neuropátiás fájdalom, szorongás és depresszió-szerű viselkedés egérmockjeiben

Magyarországi Fájdalom Társaság konferenciája, Szeged, 2017.11.10-11., poszter

Hunyady Ágnes, Borbély Éva, Kántás Boglárka, Pintér Erika, Szolcsányi János, Helyes Zsuzsanna

Szomatosztatin 4 receptor agonisták vizsgálata neuropátiás fájdalom, szorongás és depresszió-szerű viselkedés egérmockjeiben

MÉT Konferenciája Debrecen 2017.06.13-16., poszter

Hunyady Ágnes, Borbély Éva, Kántás Boglárka, Pintér Erika, Szolcsányi János, Helyes Zsuzsanna

10 Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Helyes Zsuzsannának és Dr. Borbély Évának az elmúlt évek során nyújtott segítségükért, végtelen türelmük és bátorításuk folytán elért sikerekért, tudományos elhivatottságuk és optimizmusuk egyedülálló inspiráció volt munkám során.

Köszönettel tartozom még Dr. Pintér Erika intézetigazgatóknak, hogy lehetővé tette munkámat a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben.

Köszönöm Bölcskei Kata, Tékus Valéria iránymutatását, Payrits Maja, Pohóczky Krisztina, Horváth Ádám István, Botz Bálint, Horváth Szabina, Kecskés Angéla, Konkoly János, Hajna Zsófia, Gubányi Tímea, Békefi Katinka és Szentés Nikolett közreműködését a kísérletekben, és Önböli Dóra, Bagoly Teréz, Szarka Zsanett, Orbán Izabella és Perkecz Anikó asszisztenciáját, és kollaborátoraink, Gaszner Balázs és Mócsai Attila együttműködését. Köszönöm kollaborációs partnereinknek a rendelkezésünkre bocsájtott gényiányos egereket és anyagokat.

Köszönöm családomnak és barátaimnak a rengeteg támogatást, amit az évek során nyújtottak.