

MTA doktori értekezés tézisei

**Vér-agy gát vizsgálatok sejtenyészetes modelleken:
gyógyszerátjuttatás és betegségek mechanizmusa**

Dr. Veszeka Szilvia



HUN-REN Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biofizikai Intézet,
Biológiai Barrierék Kutatócsoport

Szeged

2025

*„A természet nem ért tréfát: mindig igaz, mindig komoly,
mindig szigorú, mindig igaza van; a hibák és tévedések mindig az emberéi.”*

Johann Wolfgang von Goethe

Bevezetés

A vér-agy gát felépítése

A **vér-agy gát** a vérkeringés és az agyszövet közötti dinamikus határfelület, melynek elsődleges feladata a neuronok működéséhez szükséges ionos homeosztázis megteremtése, az agy táplálása és káros anyagokkal szembeni védelme. A vér-agy gát anatómiai alapját az agyi hajszálerek falát alkotó endotélsejtek képezik, melyek a kapilláris bazális membránján a pericitákkal osztozkodnak. Az agyi mikroereket kívülről az asztroglia végtalpak teljes hosszukban beburkolják. Az agyi endotélsejtek az asztrogliaakkal, pericitákkal, és más szomszédos sejtekkel, mint a perivaszkuláris mikrogliákkal és neuronokkal közösen egy funkcionális egységet alkotnak, melyet neurovaszkuláris egységnek nevezünk.

A vér-agy gát **morfológiai alapja** az agyi endotélsejtek folytonos rétege, amelyek a perifériás erekkel ellentétben nem fenestráltak, hanem szoros (tight junctions, TJ) és adherens sejtközötti zárókapcsolatokkal kapcsolódnak egymáshoz. Ezek a TJ-k jelentősen korlátozzák a sejtek közötti, azaz paracelluláris transzportot. A TJ-ket olyan integrális membránfehérjék építik fel, mint az okkludin, a kladinok és a junkcionális adhézios molekulák (JAM), amelyek perifériás membránfehérjékkel kapcsolódnak az aktin citoszkeletonhoz. E perifériás fehérjék tagjai a zonula occludens fehérjék (ZO-1, ZO-2, ZO-3), a cingulin és a kateninek. Az adherens kapcsolatok transzmembrán fehérjéi, a cadherine, kalciumfüggő sejtadhézios molekulák, melyek citoplazmatikus részükkel más fehérjékhez, főleg kateninekhez kapcsolódnak.

Az agyi endotélsejtek számos, a perifériás **endotélsejtekre jellemző** tulajdonsággal rendelkeznek: szabályozzák a vérárvadást, az értónust és az agyi keringést vazóaktív anyagok (endotelinek, nitrogén-monoxid) termelésével, a lipoprotein metabolizmust és transzportot scavenger receptoraik segítségével. A vér-agy gát funkció betöltéséhez azonban az agyi endotélsejtek speciális tulajdonságokkal is rendelkeznek, melyek megkülönböztetik őket a többi endotélsejtől. A sejtek közötti szoros zárókapcsolatok nem csak a restriktív paracelluláris transzportnak, hanem az agyi endotélsejtek polaritásának alapját is megteremtik. Ezért eltérő az agyszövet, illetve a vér felőli sejtmembránokon a transzporterek, ioncsatornák, receptorok kifejeződése. Az idegrendszer sejtjeinek működéséhez szükséges anyagok átjuttatását a vér-agy gáton át az agyi endotélsejtek speciális transzportrendszerei végzik szigorúan szabályozott módon. Ugyanezek a transzportrendszerek felelősek azonban azért is, hogy számos gyógyszerhatóanyag egyáltalán nem, vagy csak korlátozott mennyiségben jut be az agyba.

A **vér-agy gáton keresztüli anyagtranszport** számos különböző transzportútvonalon valósul meg: lipid-mediált diffúzió, paracelluláris transzport, karrier-mediált transzport, efflux pumpák, receptor-mediált transzcitózis és adszorptív-mediált transzcitózis. A kis, lipofil molekulák, mint például a nikotin vagy az etanol lipid-mediált szabad diffúzióval jutnak át a vér-agy gáton. Az agyi endotélsejtek közötti TJ-k megakadályozzák a vízdékony molekulák sejtek közötti (paracelluláris) áramlását. Az agy fiziológias működéséhez nélkülözhetetlen tápanyagok, mint például a cukrok, ketontestek, aminosavak, zsírsavak, vitaminok, monokarbonsavak, nukleozidok, purinok és pirimidin bázisok, szerves ionok, szerves anionok és kationok bejutását az agyba a vér-agy gáton át specifikus szállítófehérjék, karrierok végzik (*Campos-Bedolla és mtsai., 2014*). Ezek közül a vér-agy gáton nagy mennyiségben fejeződnek ki a solute carrier (SLC) fehérjecs család tagjai, melynek több mint 400 tagja van. A központi idegrendszerre potenciálisan káros idegen anyagok agyi bejutásának megakadályozása illetve a különböző anyagcseretermékek szintjének szabályozása az agyi endotélsejtek membránjában ülő efflux pumpák segítségével valósul meg. A legfontosabb efflux pumpák közé tartozik a P-glikoprotein (P-gp vagy ABCB1 vagy MDR1), a multidrog rezisztencia-asszociált fehérjék (MRP-k vagy ABCC család), illetve az emlőrák-rezisztencia

fehérje (BCRP vagy ABCG2). Számos lipofil gyógyszerhatóanyag ligandja a vér-agy gát efflux pumpáinak, mint például a loperamid, verapamil vagy a vinblasztin, így ezek nem képesek hatékony koncentrációban az agyba jutni. Az idegrendszer számára fontos peptidek és fehérjék az agyi endotélsejtek membránjába kötött specifikus receptorok segítségével jutnak be az agyba, mint például az inzulin, a transferrin, a leptin, lipoproteinek, egyes hormonok és a citokinek. Az agyi endotélsejtekben alacsony az endocitotikus vezikulák száma, ezáltal a nem-specifikus vezikuláris transzcitózis mértéke is kisebb, mint a perifériás endotélsejtekben. A nagy méretű, töltéssel rendelkező anyagok, mint például a szérumfehérjék közül az albumin agyi bejutása adszorptív-mediált transzcitózissal élettani körülmények között igen alacsony, fokozott agyi bejutása a vér-agy gát sérülésére utalhat. Az agyi kapillárisok endotélsejtjeinek lumenális, vér felőli felszínén a membránban található glikolipidek, glikoproteinek, illetve heparánszulfát-proteoglikánok oldalláncai negatív felszíni töltésű glikokalix réteget hoznak létre, amely, mint egy elektrosztatikus gát, megakadályozza az erősen anionos molekulák vér-agy gáton való átjutását (*Walter és mtsai, 2021*). Az agyi endotélsejtek számos enzimet is termelnek (fázis I, II enzimek, γ -glutamil-transzpeptidáz, butirilkolin- és acetilkolin- észteráz, monoamin-oxidázok, glutamát-dekarboxiláz), ezáltal fontos transzport folyamatokban, illetve a metabolikus vér-agy gát kialakításában is szerepet játszanak.

A vér-agy gát modellezése

A vér-agy gát vizsgálatára számos sejtenyészeti modell létezik. A különböző *in vitro* modellek eltérő fajokból származó sejtvonalakat vagy állatokból izolált primer sejteket vagy őssejt eredetű sejteket használnak. Az **immortalizált agyi endotélsejtvonalak** (GP8, RBE4, hCMEC/D3, stb) előnye, hogy a sejtek gyorsan, egyszerűen és alacsony költségek mellett tenyészthetők és a modellek könnyen felskálázhatóak. Hátrányuk viszont, hogy a sejtek számos fontos, az agyi endotélsejtekre jellemző élettani tulajdonságaikat elvesztik, így gyenge gáttulajdonságokkal rendelkeznek. A **primer sejt modellek** számos fajból, leggyakrabban egér, patkány, sertés vagy borjú agyból izolált sejtek tenyésztésén alapulnak. A primer agyi endotélsejtek agyi pericitákkal és asztroglia sejtekkel együtt tenyésztve, ko-kultúrában tartva jelentősen szorosabb és jobb gátfunkciókkal rendelkező megbízhatóbb vér-agy gát modellt eredményezett. A primer tenyészetek hátránya viszont, hogy nehezen beszerezhetők, rosszul skálázhatók, izolálásuk és tenyésztésük pedig költséges és magas szakértelemet igényel. Mivel a költségek és az *in vitro* modell kapacitása fontos tényező az ipari gyógyszeresztelések során, ezért olyan **építelsejteken alapuló monokultúrás modelleket** is használnak a gyógyszeriparban a központi idegrendszeri gyógyszerjelöltek vér-agy gát permeabilitásának tesztelésére, melyek gyorsan és nagy mennyiségben előállíthatók. Leggyakoribb modellek a Caco-2 humán bélhámsejtvonal, a kutya veseépítel sejtvonal (MDCK), és ennek a humán MDR1 génnel transzfektált szubklónja az MDCK-MDR1.

A vér-agy gát szerepe betegségekben

A központi idegrendszeri betegségek patológiájának központi eleme a **vér-agy gát működési zavara**, mely hipoperfúzió-hypoxia kialakulásához, a transzcitózis megváltozásához és az endotélsejtek metabolikus diszfunkciójához vezet. Az idegsejtek energiaellátása csökken, a TJ-k sérülnek, a neurotoxikus anyagok bejutása megemelkedik az agyba, és a káros metabolitok kifelé irányuló transzportja csökken. A vér-agy gát működési zavarait ismerték fel többek között neurodegenerációs kórképekben (Alzheimer-kór, Parkinson-kór, Huntington-kór), szklerózis multiplexben, agyi traumákban, epilepsziában és sztrókbán is.

A vér-agy gát működési zavarait azonban nemcsak központi idegrendszeri kórképekben, hanem szisztémás betegségekben, mint például **cukorbetegségben** is leírták,

ahol a reaktív karbonil gyökök, mint például a metilglioxál felhalmozódása karbonil stresszt és sejtkárosodást okoz.

Egyre több vizsgálat igazolja, hogy a **krónikus stressz** neurovaszkuláris diszfunkciót idéz elő, a TJ fehérjéinek downregulációját okozza a vér-agy gáton, ami permeabilitás fokozódáshoz vezet, ezáltal elősegítve az agyi neuroinflammációt, neurodegenerációt, kognitív, affektív és viselkedési zavarokat és hozzájárulhat mind idegrendszeri, mind neuropszichiátriai rendellenesség kialakulásához.

Az időskori kognitív hanyatlás gyakori kiváltó oka a kóros zsírsavcsere elváltozások (diszlipidémia) és ennek következményeként kialakuló **ateroszklerózis**, mely hosszútávon kardiovaszkuláris és cerebrovaszkuláris rendellenességekhez vezethet. Az ateroszklerózissal közvetlen kapcsolatban áll a vaszkuláris demencia és az Alzheimer-kór előfordulásának nagyobb valószínűsége is.

A vér-agy gát működési zavarai és annak hátterében álló pontos mechanizmusok az egyes betegségek kialakulásában és progressziójában, valamint a neurovaszkuláris egység sejtjeinek gyógyulásban betöltött szerepe kulcsfontosságú, intenzíven kutatott terület, mely számos megválaszolatlan kérdést tartogat még.

Az agyi gyógyszerbejuttatás hatékonyságának növelésére alkalmas módszerek

A vér-agy gát az agy egyik legfontosabb védelmi rendszere az idegen anyagokkal szemben. Azonban ugyanazok a mechanizmusok, amelyek a központi idegrendszert védik, a gyógyszerek agyba jutását is korlátozzák. Mivel a gyógyszerek és gyógyszerjelölt hatóanyagok jelentős része nem képes megfelelő mértékben átjutni a vér-agy gáton, új gyógyszerbeviteli stratégiák kifejlesztésére van szükség. A hatóanyagok agyi bejuttatására három **főbb stratégia** áll rendelkezésre: (1) a vér-agy gát megkerülése, (2) **a vér-agy gát működésének megváltoztatása** és (3) **a vér-agy gát transzportútvonainak kihasználása** (Veszeka és mtsai., 2015).

A legintenzívebben kutatott agyi gyógyszerbeviteli stratégia a vér-agy gát fiziológiás transzportútvonainak kiaknázása. A hatóanyagok fiziko-kémiai tulajdonságainak változtatása, például kationizálása fokozhatja az agyi bejutást. Az agyi endotélsejtek lumen felületén a glikokalix által létrehozott erős negatív felületi töltés csökkenti a negatív töltésű gyógyszermolekulák vagy nanorészecskék bejutását, és kedvez a kationos molekulák bejutásának az adszorptív-mediált transzcitózis révén. Ígéretes, és az utóbbi években igen aktívan kutatott lehetőség a hatóanyagok agyi bevitelének növelésére a vér-agy gát receptor-mediált, illetve karrier-mediált transzcitózis transzportútvonainak kihasználása (Veszeka és mtsai., 2015). A gyógyszermolekulák közvetlenül is kötődhetnek a vér-agy gát transzportereihez, illetve receptoraihoz, vagy valamilyen hordozóhoz, például nanorészecskékhez is kapcsolhatóak.

Az orvosi biológiai kutatásokban leggyakrabban használt **nanorészecskék** a lipid, polimer és fém nanorészecskék. A szisztémásan beadott nanorészecskék a perifériás szervekben (máj, vese, lép) csapódhatnak, ezért megfelelő agyi bejutásukhoz specifikus célzásra van szükség (Veszeka és mtsai., 2015; Deli és mtsai., 2024). A nanorészecskék felszínéhez kötött **célzó-molekulák** rendkívül sokfélék lehetnek, melyek leggyakrabban az agyi endotélsejtek lumen membránjában elhelyezkedő transzporterekhez vagy receptorokhoz kötődni képesek ligandok, ezáltal molekuláris trójai falovakként képesek a nanorészecskébe zárt hatóanyagot a vér-agy gáton átjuttatni. A nanorészecskékkel kapcsolatos kutatások egyik fő iránya a központi idegrendszeri betegségek terápiájában alkalmazható, célzott nanohordozóval formulált gyógyszerek kifejlesztése.

2. Célkitűzések

Kutatómunkám fókusza a következő három nagy terület vizsgálatára irányult:

I. A vér-agy gát vizsgálatára alkalmas sejtenyészetes modellek jellemzése és összehasonlítása

(1) Célul tűztük ki, hogy részletesen összehasonlítsuk az *in situ* anatómiai helyzetet jól modellező, nagy komplexitású, az agyi mikrovaskuláris endotélsejtek, periciták, valamint gliasejtek primer tenyészetéből létrehozott, három sejtípusból álló vér-agy gát modellt (EPA) és a vér-agy gátat helyettesítő epitelsejt alapú modellek (Caco-2 humán bélepitelsejt; P-glikoproteint expresszáló vinblasztin kezelt VB-Caco-2; kutya veseepitelsejt MDCK és MDCK-MDR1) morfológiáját és funkcionális tulajdonságait, kiemelve az egyes modellek előnyeit és hátrányait gyógyszerek agyi bejutásának vizsgálatában (*Hellinger és mtsai., 2012*).

(2) Az agyi endotélsejtes vér-agy gát és a helyettesítő epitelsejtes modellek összehasonlítását kibővítettük, és a korábban vizsgált EPA és epitelsejtes modellek (Caco-2, VB-Caco-2, MDCK-MDR1) mellett a patkány GP8, RBE4 és a humán agyi endotél D3 és D3L sejt vonalakat is bevontuk vizsgálatainkba, így összesen 9 sejtenyészetes modellt hasonlítottunk össze. A sejtenyészetek morfológiai tulajdonságai mellett a vér-agy gát működése szempontjából kulcsfontosságú TJ fehérjék, SLC és ABC transzporterek és gyógyszereket metabolizáló enzimek génjeinek expressziós mintázatát is összehasonlítottuk, valamint megvizsgáltuk, hogy van-e különbség tizenegy gyógyszerhatóanyag átjutásban a különböző modelleken (*Veszélka és mtsai., 2018*).

II. A vér-agy gát sérüléseinek vizsgálata különböző patológias modellekben

A vér-agy gát számos betegségben sérül, gát funkciója meggyengül, áteresztőképessége megnő, az agyat védő és tápláló mechanizmusai romlanak, ami hozzájárul az idegsejtek károsodásához és sejtpusztulásához, ezért a központi idegrendszer működése is zavart szenved. A vér-agy gát működésének megértése és a különböző betegségmodellekben a gátműködés sérüléseinek vizsgálata ezért kulcsfontosságú, hiszen a vér-agy gát sejtjei terápiás célpontként szolgálhatnak ezeknek a betegségeknek a gyógyításában. Eddigi kutatómunkám során számos betegségmodellben vizsgáltam a vér-agy gát működésének változásait és kerestem az agyi endotélsejteken védőhatást kifejtő molekulákat, hatóanyagokat.

Jelen értekezésemben ezen munkáink közül részletesen bemutatom, hogy:

(3) milyen károsodást okoz a karbonil stresszt kiváltó metilglioxál agyi endotélsejteken (*Tóth és mtsai., 2014a*);

(4) a neuroprotektív hatású edaravon kezelés képes-e megvédeni a vér-agy gát sejtjeit a metilglioxál okozta károsodással szemben (*Tóth és mtsai., 2014b*);

(5) a krónikus stressz milyen sérülést vált ki a vér-agy gát sejtjeiben (*Sántha és mtsai., 2016*);

(6) a hipertrigliceridémia milyen cerebrovaszkuláris elváltozásokat hoz létre APOB-100 transzgenikus egerekben, a humán ateroszklerózis modelljében (Hoyk és mtsai., 2018).

III. A hatékonyabb agyi gyógyszerbejuttatás lehetőségeinek vizsgálata

A vér-agy gát védő mechanizmusainak köszönhetően az agyi gyógyszerbejuttatás hatékonyságának fokozása nagy kihívást jelent. Mivel a gyógyszerek és gyógyszerjelölt hatóanyagok jelentős része nem képes megfelelő mértékben átjutni a vér-agy gáton, új gyógyszerbeviteli stratégiák kifejlesztésére van szükség (Veszélka és mtsai., 2015). Kutatómunkám során számos gyógyszerbeviteli módszert vizsgáltam, ezek közül ebben az értekezésben az agyi endotélsejtek közötti szoros sejtkapcsolatok módosítását és reverzibilis megnyitását (7-9), valamint a vér-agy gátat célzó nanoméretű hordozórendszerek hatékonyságának vizsgálatát (10-18) mutatom be.

(7) Kísérleteink során arra kerestük a választ, hogy a TJ modulátor peptidek képesek-e a vér-agy gát modell áteresztőképességét fokozni és ezzel az agyi gyógyszerbejutást növelni (Bocsik és mtsai., 2016).

(8) Megvizsgáltuk, hogy a szoros sejtkapcsolatok fehérjéi közül a kladin-5-re tervezett módosító peptid segítségével lehetséges-e reverzibilis módon növelni a vér-agy gát permeabilitását (Dithmer és mtsai., 2017);

(9) Megvizsgáltuk, hogy a kismolekula kemoterápiás adjuváns tezmilifen kezeléssel lehetséges-e vér-agy gát megnyílást előidézni (Walter és mtsai., 2015);

(10) Megvizsgáltuk, hogy az agyi endotélsejtek LDL receptorához kötődő ApoE-vel funkcionizált donepezil hatóanyagot szállító szilárd lipid nanorészecskék képesek-e az agyi endotélsejtek receptor-mediált transzportút-vonalát kihasználva átjutni a vér-agy gáton (Topal és mtsai., 2021);

(11) Megvizsgáltuk, hogy az agyi endotélsejtek adszorptív-mediált transzportút-vonalát célzó, PepH3 peptiddel funkcionizált, amiloid- β ellenes ellenanyagot szállító nanorészecskék képesek-e a vér-agy gáton átjutni és ha igen, milyen mechanizmusokkal (Szecskó és mtsai, 2025);

(12) Tanulmányoztuk, hogy az agyi endotélsejtek transzportereihez kötődni képes biotinnal valamint glutationnal funkcionizált nanorészecskék képesek-e a vér-agy gáton átjutni (Veszélka és mtsai., 2017);

(13) Célul tűztük ki, hogy összehasonlítsuk a glutationnal célzott nanorészecskék átjutását a hematopoetikus őssejtekből differenciáltatott, gyenge gáttulajdonságokkal rendelkező humán vér-agy gát sejtenyészetes modellen, valamint ennek a modellnek a cARLA molekula kombináció kezeléssel erősített változatán (Porkoláb és mtsai., 2024);

(14) Megvizsgáltuk optikai lézercsipesz módszerrel, hogy a célzóligand glutation milyen erősséggel képes az élő agyi endotélsejtek felszínéhez kötődni (Fekete és mtsai., 2021);

(15) Kerestük a választ arra vonatkozóan, hogy az agyi endotélsejtek SLC transzportereihez kötődni képes, alaninnal, glutationnal, valamint glükózanalóggal, mint

célzóliganddal funkcionizált vezikuláris nanorészecskék képesek-e átjuttatni a biomolekula modellanyagot a vér-agy gáton, valamint hatékonyabbak-e a kétszeres ligandkombinációkkal célzott nanorészecskék az egyszeres ligandokkal jelölt nanorészecskékhez képest a sejtfelvétel és a vér-agy gát átjutás szempontjából (*Mészáros és mtsai., 2018*);

(16) Megvizsgáltuk, hogy az általunk előállított, alanin-glutation kettős ligandkombinációval célzott vezikuláris nanopartikulumok a vér-agy gáton átjutva vajon képesek-e bejutni a glia és neuron sejtekbe is (*Porkoláb és mtsai., 2020*);

(17) Arra kerestük a választ, hogy az általunk legjobbnak talált alanin-glutation vér-agy gátat célzó kettős molekulakombináció képes-e elősegíteni a hatékonyabb vér-agy gát átjutást és az agyi organoidokba való bejutást a nanorészecskék anyagától függetlenül, nemcsak vezikuláris, hanem más típusú, például polipeptid nanohordozók esetében is (*Mészáros és mtsai., 2023*);

(18) Tanulmányoztuk, hogy a glutation, leucin és aszkorbinsav hármas kombinációjával célzott nanopartikulumok képesek-e hatékonyabban átjutni a vér-agy gáton és ha igen, milyen mechanizmussal, valamint a vér-agy gáton átjutott részecskék képesek-e bejutni agyi organoidokba (*Veszélka és mtsai., 2022*).

3. Vizsgálati módszerek felsorolása

Sejtenyésztés:

- primer patkány agyi endotélsejtek, periciták és asztrogliák izolálása és tenyésztése,
- patkány GP8 és RBE4, humán hCMEC/D3 és hEC sejt vonalak tenyésztése

Patkány és humán ko-kultúra vér-agy gát modellek létrehozása

Sejtenyészetek kezelése

Toxicitás mérés valós idejű impedanciaméréssel

Transzepiteliális és transzendentális elektromos ellenállás mérése (TEER)

Vér-agy gát permeabilitási vizsgálatok

Membránfluidika mérés

Efflux pumpa aktivitás mérése

Reaktív oxigéngyökök, nitrogén-monoxid és cAMP termelődés mérése

Génexpressziós vizsgálatok

Immunhisztokémiai vizsgálatok

Nanorészecskék előállítása (szilárd lipid partikulum, nioszóma, polipeptid nanohordozók)

Nanorészecskék jellemzése (méret, felszíni töltés, bezárási hatékonyság mérése)

Sejt felvételi vizsgálatok

Sejt felvételi mechanizmusok vizsgálata

- endocitózis és metabolikus gátlószerek használata, felszíni töltés módosítása

Mikroszkópos vizsgálatok

- Transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM)

- Pasztázó elektronmikroszkópia (SEM)

- Atomerő mikroszkópia (AFM)

Erőmérés optikai lézercsipesz technikával

In vivo kísérletek

- Krónikus immobilizációs stressz modell patkányokban

- ApoB-100 transzgenikus egér modell

4. Értekezés eredményeinek összefoglalása

Eddigi kutatómunkám a vér-agy gát működésének tanulmányozására és jobb megértésére irányult. A disszertációmban bemutatott vizsgálataim eredményei ennek mentén három nagy témakör köré csoportosulnak:

(I) A vér-agy gát főképpen farmakológiai és patológiai vizsgálatára alkalmas sejttenyészetes modellek jellemzése és összehasonlítása. Összehasonlító kísérleteink célja mindvégig az adott kutatási célkitűzéshez legmegfelelőbb vér-agy gát kísérleti modell megtalálása volt.

(II) A vér-agy gát sérülésének vizsgálata különböző betegségekben és egy klinikailag alkalmazott antioxidáns hatóanyag védőhatásának igazolása agyi endotélsejteken.

(III) A vér-agy gáton keresztüli hatóanyag bejuttatás növelésére új stratégiák kidolgozása és igazolása

I. A vér-agy gát vizsgálatára alkalmas sejttenyészetes modellek összehasonlítása

A gyógyszerfejlesztés korai, de meghatározó fázisában megbízható in vitro modellekre van szükség a gyógyszerjelöltek vér-agy gát penetrációjának vizsgálatára, annak igazolására, hogy egy központi idegrendszeri célpontú hatóanyag valóban bejut-e az agyba, és ha igen terápiásan hatékony mennyiségben-e, illetve fordítva, egy perifériás szervek gyógyítására tervezett hatóanyag nem megy-e át a vér-agy gáton, ami súlyos központi idegrendszeri mellékhatásokat okozhat (*Veszélka és mtsai., 2018*). A gyógyszerfejlesztés e korai szakaszában kulcsfontosságú a megfelelő vér-agy gát modell kiválasztása. A Richter Gedeon gyógyszeripari vállalattal együttműködésben, Dr. Vastag Mónika csoportjával közösen, szisztematikus módon összehasonlítottunk 5, illetve 9 tenyészetes modellt, amit két egymást követő tanulmányban közzeltünk (*Hellinger és mtsai., 2012; Veszélka és mtsai., 2018*). Ezek közé a modellek közé tartoztak a könnyen tenyészthető, közepes szűrő kapacitással rendelkező, szoros gáttulajdonságokat mutató és az iparban mindezek miatt előnyt élvező vér-agy gátat helyettesítő epitélisejtes modellek. Ezek mellett agyi endotélsejt alapú vér-agy gát modelleket tanulmányoztunk, elsősorban a primer sejtekből összeállított EPA modellt, illetve humán és patkány agyi immortalizált sejt vonalakat.

(1) Eredményeinket összefoglalva megállapítottuk, hogy a humán bélepitélisejt eredetű VB-Caco-2 és a kutya vese epitélisejtes MDCK-MDR1 modellek a permeabilitási marker molekulákra nézve hasonló P_{app} értékeket mutatnak, mint a primer sejtes patkány EPA vér-agy gát modell. Ennek alapján a paracelluláris transzportút vonal tesztelésének tekintetében a vér-agy gát modell méltó versenytársa a szoros gátnak tartott epitélisejtes modelleknek (*Hellinger és mtsai., 2012*).

Az egyik legfontosabb vér-agy gát efflux transzporter, a P-gp esetében, a VB-Caco-2 és a MDCK-MDR1 modellek, melyek a P-gp-t nagy mennyiségben expresszálják az alap Caco-2 és MDCK sejt vonalakhoz képest, szignifikánsan nagyobb számban azonosították az ismert P-gp szubsztrát gyógyszerhatóanyagokat, mint az EPA modellt. A natív Caco-2 modellhez képest a VB-Caco-2 modell minden vizsgált efflux pumpa ligandnál jobb eredményeket hozott.

A VB-Caco-2 és az MDCK-MDR1 modellek ezért egyszerű és olcsó alternatívát jelenthetnek a gyógyszeriparban és a kutatásokban egyaránt az efflux pumpa ligand esélyes gyógyszerjelöltek kiszűrésére. Ezzel szemben, amikor tíz különböző gyógyszerhatóanyag *in vitro* permeabilitási adatait a szöveti kötődéssel korrigált P_{app} *in vivo* adatokkal ábrázoltuk, a korreláció mértéke és az illeszkedés jósága hasonló volt a modellekben ($r^2 = 0,7989-0,6053$), de a legjobb korrelációt, a legmagasabb r^2 értéket az EPA vér-agy gát modell esetében figyeltük meg.

Az elektronmikroszkópos eredményeink által alátámasztott alapvetően eltérő sejtszerkezet, valamint a genetikailag programozott különbségek a TJ fehérjék és a vér-agy gát specifikus transzporterek kifejeződésében szükségessé teszi a vér-agy gátat helyettesítő epitelsejtes modellek körültekintő használatát, és az általuk kapott teszteredmények validálását endotelsejtes vér-agy gát modelleken is (Hellinger és mtsai., 2012).

(2) A Richterrel közösen végzett munkánk és a kapott értékes eredmények arra sarkalltak bennünket, hogy a vér-agy modellek összehasonlítását tovább folytassuk és kiterjesszük az agyi endotelsejtvonalas modellek körére is (Veszélka és mtsai., 2018). A patkány primer sejtes EPA vér-agy gát modell és a korábban vizsgált epitelsejtes modellek — Caco-2, VB-Caco-2, MDCK, MDCK-MDR1 — mellett vizsgálatainkat kiterjesztettük a patkány GP8 és RBE4 sejtvonalakra és a humán hCMEC/D3 modellre, valamint ennek D3L változatára is, amelynél a vér-agy gát tulajdonságokat a Wnt jelátviteli útra ható lítium-klorid kezeléssel fokoztuk (Veszélka és mtsai., 2018).

Az összesen immár kilenc különböző tenyészetes modellen kapott eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy jelentős különbségeket tártunk fel morfológiai, funkcionális és génexpressziós szinten is a primer sejt alapú EPA vér-agy gát modell és az epitelsejtes, illetve agyi endotelsejtes sejtvonalak között. A TJ fehérje gének mintázata az epitelsejtes modellekben, bár megfelelő paracelluláris szorosságot mutattak, jelentősen különbözött az agyi endotelsejtektől. A Caco-2 és a MDCK sejtekben a legmagasabb génexpressziót a klaudin-1, -3, -4, -7 esetében láttunk, ami tipikusan jellemző *in vivo* mintázat az intesztinális epitélium esetében. Génexpressziós méréseink igazolták, hogy az MDCK és MDCK-MDR modellek esetében mért alacsony TEER értékekért az ionszűrőket és pórusokat képező klaudin-2 és klaudin-16 magas expressziója felelős, ezek a vese epitelsejtek fiziológias működéséhez szükségesek. A klaudin-5, amely az egyik legfontosabb vér-agy gát szorosságot növelő TJ fehérje, az agyi endotelsejtes modellek esetében messze az EPA-ban volt a legmagasabb génexpressziós és immunfestési szinten, míg a GP8, RBE4, D3, D3L endotelsejtes modellek esetében a szintje rendkívül alacsony volt, ami magyarázza az ezekben a modellekben mért igen alacsony TEER értékeket.

A vér-agy gát elsődleges glükóz transzportere a *GLUT1* (Campos-Bedolla és mtsai., 2014) génexpressziója az EPA modellben volt a legkifejezettebb, míg az epitelsejtes modellekben a *GLUT3* és *GLUT5* volt a jelentős. A *LAT1* gén kifejeződése is magasabb volt az EPA modellben, mint a Caco-2 és VB-Caco-2 modellekben. A magas *LAT1* fehérje szint az EPA modellen különösen fontos a gyógyszerek transzportja szempontjából, mivel számos hatóanyag, mint az L-DOPA, a gabapentin, a baklofen ezen keresztül jut be az agyba (Veszélka és mtsai., 2015).

A két fő vér-agy gáton azonosított efflux pumpa a P-gp és a BCRP. A VB-Caco-2 és az MDCK-MDR1 sejtek magas szinten expresszálták a *P-gp* gént, ami hozzájárulhat ezeknek a sejtvonalaknak a magas efflux potenciáljához összhangban korábbi eredményeinkkel (Hellinger és mtsai., 2012). Azonban fontos kiemelni, hogy az MDCK-MDR1 sejtek nem expresszálták a *BCRP* gént.

Az SLC transzporterek génexpressziójának eltérései az EPA és az epitelsejtes modellek között tükröződött a kiválasztott gyógyszerhatóanyagok permeabilitási vizsgálatainak eredményében is. A neurológiai betegségekben is potenciális terápiás szerként azonosított

sztatinok esetében jelentősen jobb vér-agy gát penetrációt mértünk az EPA modellen, mint az epitelsejtes tenyészeteken. Ennek oka nagy valószínűséggel az OATP infflux transzporterek magasabb szintje az EPA modellen, melyeknek a sztatinok is a ligandjai. Az Alzheimer-kór kezelésében használt takrin és a donepezil antikolinerg gyógyszerek a szerves kationtranszporter-2 (OCT2/SLC22A2), a szerves kation/karnitin transzporter OCTN2/SLC22A5, és a CHT1/SLC5A7 kolin transzporterek ligandjaiként juthatnak be az agyba. Ez a két hatóanyag a VB-Caco-2 sejteken szignifikánsan alacsonyabban jutott át az EPA modellhez képest. Sőt, a donepezil esetében még a transzport irányok is különböztek, a VB-Caco-2 modell a bazális-apikális irányú permeabilitást mérte magasabbnak, míg az EPA modell az apikális-bazális irányú transzportot jelezte erősebbnek, összhangban a vér-agy gát SLC karrierek szerepével. Ezek az eredmények hangsúlyozzák az SLC transzporterek vizsgálatának, valamint az agyba irányuló gyógyszerhatóanyagok vizsgálatokor a megfelelő tenyésztési modell kiválasztásának fontosságát.

A tenyésztetes agyi endotelsejtes modellek a gyógyszerek metabolizmusában részt vevő fázis I és fázis II enzimek génjeit az epitelsejtekhez hasonló szinten fejezték ki. Az EPA modellben a fázis I *CYP2D6* és a *CYP2U1* gének mRNS szintje volt a legmagasabb a citokróm P450 enzimek közül. A *CYP2D6* enzimről ismert, hogy sok klinikailag alkalmazott gyógyszer konjugálásában vesz részt a májban, míg a *CYP2U1* az arachidonsav és a hosszú láncú zsírsavak agyi metabolizmusához járul hozzá. Ezzel szemben Caco-2 sejtekben a retinsavat metabolizáló extrahepatikus *CYP2S1* enzim génexpressziós szintje volt a legmagasabb. A kutya vese MDCK sejtekben vagy nem expresszálódtak a tesztelt *CYP* gének, vagy nem állt rendelkezésre fajspecifikus próba. Az adatok alapján az EPA modell expresszálja a fázis I és fázis II metabolikus enzimek génjeit, ami arra utal, hogy az enzimátikus vér-agy gát részt vehet a gyógyszerek transzportjának helyi szabályozásában.

Összefoglalva a két közlemény eredményeit elmondható, hogy jelentős különbségeket mutattunk ki a szoros gátfunkcióért felelős, valamint a gyógyszertranszportban és a lokális gyógyszer metabolizmusban szerepet játszó fehérjék génkifejeződésében az epitelsejtes és az agyi endotél sejtes vér-agy gát modellekben. Az eltérő TJ expresszió ellenére az epitelsejtes és EPA modellek megfelelő paracelluláris szorosságot mutattak. Az SLC transzporterek génexpressziójának eltérései a vér-agy gát és az epitelsejtes modellek között a kiválasztott gyógyszerhatóanyagok permeabilitásában is tükröződtek. Eredményeinket összevetve megállapítottuk, hogy a vizsgált kilenc sejtenyészetes modell közül a primer sejt alapú EPA modell tükrözi a legpontosabban a vér-agy gát morfológiai és funkcionális tulajdonságait. (Hellinger és mtsai., 2012; Veszeka és mtsai., 2018).

II. A vér-agy gát sérülésének vizsgálata különböző betegségek modelljeiben

A vér-agy gát működése számos neurológiai betegségben károsodik, mint például az Alzheimer-kór, Parkinson-kór, Huntington-kór, szklerózis multiplex, agyi traumák, epilepszia, vagy a sztrók. Ezekben a kórállapotokban a vér-agy gát barrier működése meggyengül, átteresztőképessége megnő, az agyat védő és tápláló mechanizmusai sérülnek, ami hozzájárul az idegsejtek károsodásához és sejtpusztulásához, ezért a központi idegrendszer működése is zavart szenved. A vér-agy gát sérüléseinek vizsgálata ezért kulcsfontosságú a különböző betegség-modellekben, hiszen a vér-agy gát sejtjei terápiás célpontként is szolgálhatnak ezen betegségek gyógyításában.

Az állatmodellek mellett az *in vitro* vér-agy gát modellek is alkalmasak különböző betegségek patomechanizmusának tanulmányozására és különböző védőhatású anyagok vizsgálatára is. Kutatómunkám során számos betegségben vizsgáltam a vér-agy gát működésének változásait és kerestem az agyi endotelsejtekre protektív molekulákat,

hatóanyagokat. Értekezésemben három szisztémás betegséggel kapcsolatos munkánk eredményeit mutattam be. Ezekben a diabétesz *in vitro*, a krónikus stressz és az ateroszklerózis *in vivo* modelljeiben vizsgáltuk a vér-agy gát, és azon belül elsősorban az agyi kapilláris endotélsejtek károsodásait.

A vér-agy gát sérüléseit ugyanis nem csak központi idegrendszeri kórképekben, hanem más szisztémás betegségekben, mint például diabéteszben is kimutatták már, ahol nemcsak a perifériás mikroeerek károsodnak, hanem az agyi hajszálerek is. A cukorbetegség esetében igazolták először a karbonil stresszt, vagyis a reaktív karbonilgyök metilglioxál felhalmozódását a sejtekben, ami a cukorbetegséggel összefüggő érrendszeri szövődményekért felelős. Diabéteszes betegek esetében ezért a sztrók, a demencia és az Alzheimer-kór kialakulásának kockázata is magasabb.

(3,4) Igazoltuk, hogy a metilglioxál kezelés csökkentette az agyi endotélsejtek életképességét, megnövelte a vér-agy gát permeabilitását, fokozta az endotélsejtekben a reaktív oxigéngyökök termelődését és többek között csökkentette a klaudin-5 génexpresszióját (Tóth és mtsai., 2014a, 2014b). Eredményeinkkel elsőként bizonyítottuk, hogy a klinikumban sztrók terápiájában már sikeresen alkalmazott szabadgyökfogó és neuroprotektív hatású edaravon képes nem csak az agyi endotélsejtek életképességét megóvni a karbonil stresszt okozó metilglioxállal szemben, hanem a vér-agy gát megnövekedett permeabilitását és működését is képes visszaállítani a károsodást követően (Tóth és mtsai., 2014a, 2014b). Mivel a metilglioxál felhalmozódása során kialakuló karbonil stressz megfigyelhető más betegségekben, így metabolikus szindrómában, szív- és érrendszeri betegségekben vagy Alzheimer-kórban is, ezért az edaravon alkalmas lehet ezen betegségek cerebrovaszkuláris szövődményinek kezelésére.

A vér-agy gát károsodása régóta ismert az idegrendszeri degeneratív betegségek kialakulásában, azonban a stresszel összefüggésbe hozható vér-agy gát működési zavarok kutatása egy újabban felfedezett terület volt munkánk kezdetén. Korábbi irodalmi adatok igazolták, hogy a krónikus stressz összefüggésben áll a demencia és az idegrendszeri betegségek kialakulásának fokozott kockázatával, mint például az Alzheimer-kórral vagy pszichiátriai betegségek, mint skizofrénia vagy a depresszió kialakulásával.

(5) Krónikus immobilizációs stressznek kitett patkányokon végzett kísérleteink feltárták, hogy a stressz hatására az agyi mikrokapillárisok morfológiája megváltozik, melyet a vér-agy gát kulcsfontosságú fehérjéinek expressziójában bekövetkező változások is igazoltak (Sántha és mtsai., 2016). Immunhisztokémiai vizsgálatainkban kimutattuk, hogy krónikus stressz hatására a klaudin-5 festődés komplexitása csökken, amely a kapillárisok elágazódási pontjainak csökkenésében mutatkozott meg. Csökkent az okkludin TJ fehérje fluoreszcencia intenzitása is, míg a vér-agy gát elsődleges glükóz transzporterének, a GLUT1-nek az expressziója megemelkedett. Az utóbbi változás arra utal, hogy stresszingerek hatására megnő az agy glükózigénye, ami rövid távú kompenzációs mechanizmusként megnöveli a GLUT1 expresszióját. A frontális kéregben kimutattuk a GFAP fluoreszcencia intenzitásának szignifikáns csökkenését stressz hatására. Elektronmikroszkópos vizsgálataink ultrastrukturális változásokat és morfológiai elváltozásokat tártak fel az agyi kapillárisok endotélsejtjeiben és az asztroglia végtalpakban, beleértve a szoros sejtkapcsolatok felszakadozottságát és a gliavégtalpak megduzzadását, ami ödémára utalt (Sántha és mtsai., 2016). Morfológiai eredményeink segíthetnek megmagyarázni a stressz által kiváltott vér-agy gát permeabilitási és funkcionális változásokat, amelyek szerepet játszanak a stresszel kapcsolatos neurológiai és pszichiátriai betegségek patogenezisében.

(6) Számos tanulmány vizsgálja a vaszkuláris demencia és az Alzheimer-kór kialakulásának közvetlen kapcsolatát az ateroszklerózissal, azonban az összefüggés minden részlete pontosan még nem ismert. A diszlipidémia, és az ennek hatására kialakuló érelmeszesedés kapcsolatba hozható az időskori kognitív hanyatlás kialakulásával. A krónikus hiperkoleszterinémia és a hipertrigliceridémia miatt létrejövő érelmeszesedés okozta vér-agy gát károsodások vizsgálatára a humán ateroszklerózis egér modelljét, az APOB-100 transzgenikus egér modellt használtuk (Hoyk és mtsai., 2018). A modellben a humán APOB-100 apolipoprotein fehérje túlermelődését mutatták ki a különböző szövetekben, például a májban, a szívben és az agyban. Az APOB koncentrációjának megemelkedését igazolták Alzheimer-kóros betegek szérumban, ami korrelált az amiloid- β lerakódással a betegek agyában.

A transzgenikus egereken végzett kísérleteinkben kimutattuk, hogy a szérum trigliceridszint megnőtt, a vér-agy gát permeabilitása a hippocampusban megemelkedett, a P-gp eflux pumpa és a frontális kéreg GFAP festődési intenzitása lecsökkent (Hoyk és mtsai., 2018). Ez összhangban áll a korábbi, stressz modellben megfigyelt eredményeinkkel, ahol stressz hatására szintén az agykéregben láttunk GFAP csökkenést, ami a vér-agy gát károsodására utalt (Sántha és mtsai., 2016). A vér-agy gát működési zavarát jelző funkcionális és morfológiai változások mellett génexpressziós változásokat is kimutattunk. Számos, a vér-agy gát működésében fontos gén, például *Meox2*, *Mfsd2a*, *Glut-1*, *Lrp2*, *Abcb1a*, *Nos2*, *Nos3* kifejeződése csökkent. Ezzel szemben a víz és elektrolit szabályozásért felelős *Aqp4* expressziója megnőtt, ami magyarázhatja a morfológiai vizsgálatainkban megfigyelt ödémás asztroglia végtalpak kialakulását az APOB-100 transzgenikus állatokban (Hoyk és mtsai., 2018). Ismert, hogy az *Aqp4* polarizált expressziójának elvesztése az asztrocita végtalpakban jelzi a vér-agy gát károsodását és perivaszkuláris ödéma kialakulásához vezet különböző kórképekben. A kísérleteinkben használt APOB-100 transzgenikus egér modell hasznos eszköze lehet a vaszkuláris eredetű neurodegeneratív betegségek patomechanizmusának további tanulmányozására, ami segíthet a hatékony terápiák kifejlesztéséhez.

III. Új stratégiák vizsgálata a vér-agy gáton keresztüli hatóanyag bejuttatás növelésére

A vér-agy gát paracelluláris útvonalának célzása peptidekkel és gyógyszermolekulával

A vér-agy gát szoros sejtkapcsolatainak (TJ) megnyitása a vér-agy gát áteresztőképességének átmeneti és reverzibilis növekedését okozza, ami elősegíti a hatóanyagok agyba való jobb bejutását. A TJ-modulátor peptidek képesek közvetlenül és specifikusan kölcsönhatásba lépni a TJ fehérjék extracelluláris doménjével, és ezáltal megnövelni a vér-agy gát permeabilitását.

(7) Kísérleteinkben hat különböző TJ modulátor peptid hatását hasonlítottuk össze a permeabilitás fokozására *in vitro* vér-agy gát modellen (Bocsik és mtsai., 2016): az epiteliális E-kadherinhez kapcsolódó ADT-6 és a HAV-6 peptidet, az enterotoxin eredetű C-CPE-t és AT-1002 peptidet, valamint a 7-mer/PN-78 és a PN-159/KLAL peptideket, mely utóbbiak fehérje célpontja nem volt ismert.

A HAV-6 és ADT-6 peptideknek csak gyenge hatása volt a tenyésztetes vér-agy gát modell permeabilitására, ami azzal magyarázható, hogy ezek a peptidek elsősorban a hámsejtekre specifikus E-kadherin EC1 doménjéhez képesek kötődni. Ez a kadherinkötő motívum hiányzik az agyi endotélsejtekben jelenlevő vaszkuláris endotél VE-kadherin esetében. A mikrobiális toxinokból származó peptidek közül elsőként írtuk le a ZO-1 fehérjén

ható AT-1002 peptid permeabilitást fokozó hatását agyi endotélsejteken. A C-CPE peptid, a *Clostridium* toxin aktív fragmense, amelyet mi teszteltünk először vér-agy gát modellen, nem hatott az agyi endotélsejtekre. Ez a peptid elsősorban a kladin-3 és -4 TJ fehérjékkel interakcióba lépve növeli a bélepitélsejtek permeabilitását, és szerkezetéből adódóan valószínűleg nem tud kötődni a vér-agy gát TJ fehérjéjéhez, a kladin-5-höz. A kladin-3 és -4 expressziós szintje magas az epitélsejtekben, de alacsony az agyi endotélsejtekben, ami megmagyarázza eredményeinket. A 7-mer/PN-78 peptid kötőpartnere ugyan ismeretlen, de hatása epitélsejteken már ismert volt, azonban a peptidnek a vér-agy gát permeabilitást fokozó hatását mi írtuk le először. A vér-agy gát áteresztőképességének fokozásában messze a PN-159/KLAL peptid bizonyult a leghatékonyabbnak az összes tesztelt TJ modulátor közül. Mivel kötőpartnere az irodalmi adatok alapján nem volt ismert, kötési és molekula modellezési vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a peptid legvalószínűbb kötőpartnere a kladin-1 és az agyi endotélsejtekben nagy mennyiségben jelen levő kladin-5 (Bocsik és mtsai., 2016).

A TJ modulátor peptidekkel kapcsolatos eredményeinket összefoglalva elmondhatjuk, hogy elsőként mértük meg agyi endotélsejteken a mikrobiális toxin eredetű AT-1002 és C-CPE peptidek vér-agy gát permeabilitásra gyakorolt hatását. A hat különböző TJ modulátor közül agyi endotélsejteken a leghatékonyabbnak a PN-159/KLAL peptid bizonyult, aminek kötőpartnereit is sikerült azonosítani, mégpedig a kladin-1 és a kladin-5 TJ fehérjét.

(8) *In vitro* vér-agy gát modellen végzett mérésekkel igazoltuk az új C5C2 kladin-5 peptidomimetikum paracelluláris utat megnyitó hatását, valamint azt, hogy képes megnyitni az agyi endotélsejtek szoros sejtkapcsolatait (Dithmer és mtsai., 2017). Adataink azt mutatják, hogy a kladin-5 fehérjéből származó C5C2 peptid ígéretes megközelítést jelenthet a gyógyszerek vér-agy gáton keresztüli átjutásának javítására a paracelluláris útvonal átmeneti megnyitásával (Dithmer és mtsai., 2017). Ezek a kísérleti eredmények megerősítik a korábban kladin-1 peptidekkel végzett epitélsejtes irodalmi adatokat, és igazolják, hogy a kladin fehérjéből származó, ECL1 alapú peptidek potenciálisan alkalmasak lehetnek a biológiai barrierék áteresztőképességének fokozására a szoros sejtkapcsolatok módosításán keresztül, és ezzel hozzájárulhatnak új agyi gyógyszer szállítási stratégiák kidolgozásához.

(9) Kutatómunkánk során nemcsak peptidek, hanem egy kisméretű gyógyszer molekula vér-agy gát permeabilitást fokozó hatását is megvizsgáltuk. A tezmilifen egy antihisztamin hatású tamoxifen, melynek hatékonyságát kemoterápiás adjuvánsként a perifériás daganatok számos típusában igazolták. Agyi endotélsejteken végzett kísérleteinkben a tezmilifen közvetlen hatásmechanizmusát kutatva kimutattuk, hogy a tezmilifen fokozta a paracelluláris markermolekula fluoreszcen és a transzcelluláris marker EBA penetrációját a vér-agy gát modellen keresztül (Walter és mtsai., 2015).

A multidrog rezisztencia az egyik legfőbb oka, hogy a központi idegrendszeri tumorok kezelése a mai napig nem megfelelő hatékonyságú. Ebben a vér-agy gát BCRP, P-gp és MRP efflux pumpáinak kulcsszerepe van. Mivel a tezmilifen gátolta az agyi endotélsejtek efflux pumpa aktivitását is, a permeabilitásfokozó hatással együttesen potenciálisan hozzájárulhat az antineoplasztikus gyógyszerek fokozott bejutásához a központi idegrendszeri tumorokba is. A tezmilifen hatása több párhuzamos jelátviteli útvonalon keresztül is közvetíthető, amelyekről ismert, hogy szabályozzák a vér-agy gát permeabilitását. Eredményeink a MAPK szignalizáció lehetséges részvételére utalnak, mivel az U0126, egy MAPK/ERK-kináz inhibitor részben gátolta a tezmilifen hatását (Walter és mtsai., 2015). Kimutattuk azt is, hogy a PI3K/AKT jelátviteli útvonal gátlószere, a LY294002 szintén csökkentette a tezmilifen hatását (Walter és mtsai., 2015). A gátlószerekkel kapott eredményeink alapján feltételezzük, hogy a tezmilifen vér-agy gát permeabilitást fokozó hatása a MAPK/ERK és a PI3K/AKT útvonalakon keresztül közvetíthető (Walter és mtsai., 2015).

A bemutatott eredményeink rámutatnak, hogy az eddig csak perifériás tumorok esetében alkalmazott tezmilifen alkalmas lehet adjuvánsként kemoterápiás gyógyszerek agyi bejutásának fokozására központi idegrendszeri tumoros megbetegedésekben (*Walter és mtsai., 2015*).

A vér-agy gát transzcelluláris útvonalának célzása nanorészecskékkel

Intenzíven kutatott módszer a gyógyszermolekulák agyi bejuttatására a nanoméretű hordozórendszerek alkalmazása. A nanohordozók számos előnyös tulajdonsággal rendelkeznek, ilyen többek között a biokompatibilitás, a biológiai lebomlás, a nagy fajlagos felület, a szabályozott hatóanyag felszabadulás, és hogy hidrofil és hidrofób hatóanyagokat egyaránt képesek szállítani. Mivel a keringésbe juttatott nanorészecskék könnyen csapdázódhatnak perifériás szervekben, főképpen a májban és a lépben, ezért a megfelelő agyi bejuttatáshoz célzó molekulákra van szükség. A nanorészecskék felszínére kötött célzó molekulák segítségével, amelyek a vér-agy gát receptoraihoz vagy transzportereihez kötődnek, a célzott nanorészecskék mint „molekuláris trójai falovak” képesek lehetnek az agyba gyógyszereket bejuttatni a vér-agy gát transzcelluláris útvonalait kihasználva. A nanopartikulumokkal végzett kísérleteinkben több különböző anyagú nanohordozót is előállítottunk, és a vér-agy gát mindhárom aktív transzcelluláris útvonalának, a receptor-mediált, az adszorptív-mediált, illetve a karrier-mediált transzcitózis útvonalának kihasználására is terveztünk és vizsgáltunk nanorészecskéket.

(10) A vér-agy gát receptor-mediált transzcitózis útvonalának célzására elsőként állítottunk elő donepezil hatóanyaggal töltött és az agyi endotélsejtek LRP és LDLR receptoraihoz kötődni képes ApoE-célzó liganddal ellátott szilárd lipid nanopartikulumokat (*Topal és mtsai., 2021*). A donepezil széles körben alkalmazott gyógyszer az enyhe és közepes tünetekkel járó Alzheimer-kór kezelésére. Reverzibilis acetilkolin-észteráz gátlóként hat, növeli az acetilkolin koncentrációját a kolinerg szinapszisokban, melyek fontos szerepet játszanak a memóriaképződés folyamatában. A donepezillel kapcsolatban azonban a fő probléma, hogy bár képes átjutni a vér-agy gáton, amit mi is kimutattunk korábban (*Veszélka és mtsai., 2018*), de számos nemkívánatos mellékhatást okoz, mint a hányinger, hasmenés, izomgörcsök, májtoxicitás, álmatlanság és szívritmuszavar. A donepezil agyi penetrációjának növelésére és a perifériás mellékhatások csökkentésére ezért jó stratégia lehet a nanorészecskébe történő kapszulázása. Eredményeinkkel igazoltuk, hogy a vér-agy gát receptor-mediált transzcitózis útvonalát célzó ApoE a nanorészecske felszínéhez kötve elősegítette a donepezillel töltött lipid nanohordozók felvételét az agyi endotélsejtekbe és átjutását a vér-agy gáton. Emellett megnövelte a neuronokba való bejutásukat is, ami előnyös lehet központi idegrendszeri betegségek, például Alzheimer-kór terápiájában, ahol a terápiás célpontok az idegsejtek.

(11) Az adszorptív-mediált transzcitózis, szemben a receptor-mediált transzcitózissal, nem függ a specifikus receptorok expressziójától a vér-agy gáton, és nem korlátozza az endogén ligandok kötődése sem. Az adszorptív-mediált transzcitózis koncentráció-, idő- és energiafüggő folyamat, mely magasabb koncentrációnál telítődik, mint a receptor-mediált, ami elméletileg nagyobb mennyiségű hatóanyag bejutását teszi lehetővé az agyba. Portugál együttműködő partnereink kimutatták, hogy a Dengue vírus kapszid fehérjéjéből előállított kationos PepH3 peptid jelentős mennyiségben képes átjutni a vér-agy gáton adszorptív-mediált endocitózissal, és képes *in vivo* bejutni az agyba is. Ezért megvizsgáltuk, hogy a PepH3 peptid nanorészecskék célzó molekulájaként elősegíti-e az NP-k vér-agy gáton való jobb átjutását. PepH3-mal célzott nioszómákat állítottunk elő, amelyekbe fluoreszcens modell anyagot, illetve

terápiás hatóanyagként amiloid- β peptidet felismerő ellenanyagot csomagoltunk (Szecskó és mtsai., 2025). Kimutattuk, hogy a PepH3 mint célzó molekula nanohordozók felszínéhez kötve szignifikánsan jobb sejtfelvételt és vér-agy gáton való átjutást eredményezett a fluoreszcens fehérjével és az ellenanyaggal töltött NP-k esetében is. Igazoltuk azt is, hogy a PepH3-célzott nanorészecskék töltete aktív, energiaigényes módon jut be a sejtekbe. A folyamat részben endocitózissal történik és csak az NP-k kis része csapdázódik a lizoszómákban (Szecskó és mtsai., 2025). Eredményeink alátámasztják, hogy a kationos PepH3 peptid ígéretes lehet nanohordozók célzó molekulájaként, mivel hatékonyan növeli a hatóanyagok, például antitestek vagy más terápiás biomolekulák vér-agy gáton való átjutását, és elősegítheti azok bejutását az agyszövetbe is.

A vér-agy gát karrier-mediált transzportútvonalának célzására az SLC transzporter családot választottuk, melyekről mi is kimutattuk, hogy tagjai nagy mennyiségben és jellegzetes génexpressziós mintázatban fejeződnek ki az agyi endotélsejtek membránjában (Veszélka és mtsai., 2018). Számos a klinikumban alkalmazott hatóanyag, mint például az L-DOPA, a gabapentin vagy a baclofen az SLC transzporterekhez kötődve az agyi endotélsejtek karrier-mediált transzcitózis útvonalán keresztül képes átjutni a vér-agy gáton. Kutatási hipotézisünk az volt, hogy az SLC fehérjék alkalmas célpontok lehetnek célzott hatóanyag bejuttatásra az agyba nanorészecskékkel, főképpen ligandok kombinálásával. Bár az SLC transzporterek élettani és farmakológiai szempontból is nagyon fontosak, agyi gyógyszerbeviteli szempontból eddig még kevésbé kiaknázottak.

Kísérleteinkben több SLC transzporter ligandot vizsgáltunk: biotint, alanint, glükopiranózt, leucint, aszkorbinsavat, és az irodalmi adatok alapján az egyik leghatékonyabb célzó molekulát, az antioxidáns hatású tripeptid GSH-t. Kutatási hipotézisünknek megfelelően, a hangsúlyt ezek kombinációira fektettük (alanin-GSH, alanin-glükopiranóz, GSH-glükopiranóz, leucin-GSH-aszkorbinsav). A ligandokat önmagukban és kombinációkban alkalmaztuk a nanorészecskék funkcionálisítására, majd összehasonlítottuk a sejtfelvételi és vér-agy gát penetrációs képességüket a nem célzott nanorészecskékkel. A GSH-val célzott nanorészecskék hatékonyságát több kutatócsoport is igazolta *in vivo* és *in vitro* vizsgálatokban egyaránt. A PEG-GSH liposzóma, mint agyi gyógyszerbeviteli platform a klinikai vizsgálatok I/IIa fázisáig is eljutott. Azonban az SLC ligandok közül a biotint, az alanint vagy a leucint előtűnt még nem tesztelték nanorészecskék célzó molekulájaként a vér-agy gáton való átjutás elősegítésére.

(12) Kísérleteinkben először biotin, illetve GSH liganddal célzott nanorészecskéket vizsgáltunk agyi endotélsejteken (Veszélka és mtsai., 2017). Eredményeink igazolták, hogy a biotin-jelölés szignifikánsan megnöveli a szilárd nanorészecskék sejtfelvételét és átjutását humán agyi endotélsejtek rétegén a nem jelölt részecskékhez képest. Elsőként igazoltuk, hogy a biotin, amit eddig csak alapvetően az erős avidin-biotin kötésen alapuló ligációs technikákra használtak, potenciálisan felhasználható lehet mint nanorészecskék célzó ligandja gyógyszerek hatékonyabb agyi bejuttatására (Veszélka és mtsai., 2017). Ugyanakkor kísérleteinkben a biotin és a GSH hatékonyságát összehasonlítva mind a sejtfelvételi, mind a vér-agy gát penetrációs vizsgálatokban jobb eredményeket kaptunk a GSH esetében, ezzel humán vér-agy gát modellen mi is megerősítettük a GSH, mint célzó molekula hatékonyságát és további kísérleteinkben is vizsgáltuk a GSH-t, mint célzó molekulát.

(13) A nanorészecskék dokkolása a célzó ligandok segítségével az agyi endotélsejtek membránjához a nanohordozók endocitózisának első és egyben kulcslépése. A GSH-val kapott ígéretes eredmények után az SZBK Biofotonika és Biomikrofluidikai Kutatócsoportjával

együttműködésben egy új, innovatív optikai lézercsipesz technikát dolgoztunk ki, ennek az első lépésnek a mérésére. Elsőként sikerült kimérnünk a lézerfényvel mozgatót mikroeszközhöz kötött GSH, mint célzóligand közvetlen kötődési erősségét élő agyi endotélsejtek sejt felszínéhez (Fekete és mtsai., 2021). Az általunk kidolgozott új lézercsipesz technikával az AFM méréseknél érzékenyebben, és nagyon alacsony pN mérettartományba eső kötődési erőket is képesek voltunk kimérni. Kimutattuk a GSH, mint célzóligand kötődési erősségét élő agyi endotélsejtekhez, mely szignifikánsan magasabb volt, mint a csak PEG funkcionizált mikroeszközök esetében (Fekete és mtsai., 2021). Az általunk kidolgozott innovatív optikai lézercsipesz módszer egyben alkalmas új vér-agy gát célzó ligandok vizsgálatára és kiválasztására a kötődési erők mérése alapján.

(14) A nanorészecskék felszínéhez kötött GSH, mint célzó molekula hatékonyságát tovább vizsgáltuk köldökszinórvér őssejtekből differenciáltatott humán vér-agy gát modellen is, valamint ennek a modellnek a cARLA kezelt változatán, ami szorosabb gátat alkot és jobb vér-agy gát funkciókat mutat (Porkoláb és mtsai., 2024). A csoportunk által szabadalmaztatott cARLA kis molekulák kombinációja, mely a vér-agy gát érésében jelentős három különböző szignalizációs útvonal, a cAMP és a Wnt/ β -katenin jelátvitel fokozásával, illetve a TGF- β útvonal gátlásával erősíti a vér-agy gát funkciókat többek között a kladin-5 expressziójának emelésével, a nemspecifikus endocitózis csökkentésével és a vér-agy gát specifikus efflux és SLC transzporterek expressziójának növelésével (Porkoláb és mtsai., 2024). Kimutattuk, hogy a cARLA-kezelés hatására a nem célzott NP-k vér-agy gát átjutása alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz képest, ami összhangban áll a cARLA hatására bekövetkező csökkent endocitózissal. Igazoltuk, hogy a nem-célzott és GSH-célzott nanorészecskék vér-agy gát permeabilitása és sejt felvétele közötti szignifikáns különbség a GSH célzott NP-k javára csak a cARLA kezelt csoportban volt kimutatható (Porkoláb és mtsai., 2024). Mindez arra utal, hogy a cARLA a vér-agy gát specifikus fehérjék expressziójának növelésével a GSH transzporterek kifejeződését is növeli, ezáltal elősegíti a nanorészecskék felszínéhez kötött GSH vér-agy gát specifikus célzó hatását.

Az agyi endotélsejtek SLC génjeinek részletes feltérképezésével (Veszélka és mtsai., 2018) számos olyan új szállítófehérje merült fel, amelynek ligandja alkalmas lehet nanorészecskékbe zárt hatóanyagok célzott agyi bejuttatására. Kimutattunk, hogy az SLC transzporterek közül a legnagyobb mennyiségben a vér-agy gát elsődleges glükóz transzportere a GLUT1 fejeződik ki, valamint az aminosavakat szállító transzporterek közül az SLC38A és SLC1A család tagjai, és a SLC7A5/LAT1 (Veszélka és mtsai., 2018). Az expressziós mintázat alapján hipotézisünk az volt, hogy a glükózanalógok és aminosavak, illetve ezek kombinációja hatékony és szelektív módszer lehet nanohordozók funkcionizálására, és jobb vér-agy gát átjutást eredményezhet. A glükózt és analógjait, mint targetáló ligandot nioszómákhoz polimer NP-khez és arany nanorészecskékhez kötve már tesztelték korábban agyi gyógyszerbejutatás fokozására. Azonban az aminosavak közül az alanint és a leucint NP-k célzóligandjaként, illetve olyan kettős ligand kombinációkat, melyek egyszerre két SLC transzportert is céloznak a vér-agy gáton kísérleteink előtt még nem alkalmaztak.

(15) Elsőként hasonlítottuk össze az egyszeres ligandokkal – glükopiranózzal, alaninnal és GSH-val – funkcionizált, valamint ezek kettős ligandkombinációjával – alanin-GSH, alanin-glükopiranóz, glükopiranóz-GSH – ellátott nem-ionos felületaktív agyagokból és koleszterinből felépülő nioszómák sejt felvételét és vér-agy gát átjutását (Mészáros és mtsai., 2018). A nioszómák töltetének a nagy molekulású EBA-t választottuk, amelynek nagyon alacsony a vér-agy gát penetrációja *in vivo* és *in vitro* is. A célzó molekulák jelenléte a nioszómák felszínén megnövelte az EBA töltet sejt felvételét a tenyésztett agyi endotélsejtekbe, de szignifikáns növekedést csak az alanin-GSH és az alanin-glükopiranóz kombinációk

esetében kaptunk. Igazoltuk, hogy az alanin-GSH kettősen célzott nioszómák sejtfelvétele hőmérsékletfüggő volt, és metabolikus, illetve endocitotikus inhibitorok gátolták. Ez arra utal, hogy aktív energiaigényes folyamatról van szó, nem pedig passzív sejtbjutásról. Kimutattuk, hogy az agyi endotélsejtek glikokalixának negatív felületi töltése szerepet játszik a nioszómák sejtfelvételében, mert a töltés megváltoztatása kationos lipid kezeléssel, vagy a glikokalix neuraminidázzal történő leemésztésével, megnövelte a célzott nanohordozók töltetének sejtfelvételét. Igazoltuk azt is, hogy a nem-ionos felületaktív anyagból felépülő nioszómák megnövelték az agyi endotélsejtek membránfluiditását, ami a nanorészecskék és az endotélsejtek membránfúziójára utal. Ez a hatás a kettősen célzott nioszómáknál még kifejezettebb volt. Eredményeink alátámasztották, hogy az egyszeres liganddal célzott NP-khez képest a kettős ligand kombinációval célzott nioszómák szignifikánsan megemelték az EBA töltet permeabilitását az *in vitro* vér-agy gát modellen keresztül, amit *in vivo* is igazolni tudtunk (Mészáros és mtsai., 2018). Adataink elsőként igazolják, hogy azok a nanorészecskék, melyek egyszerre két SLC transzporter ligandjával is jelölve vannak szignifikánsan jobb vér-agy gát penetrációt mutatnak, mint az egyszeresen jelölt részecskék ezért alkalmasak lehetnek agyi gyógyszerbejuttatásra. Kimutattuk azt is, hogy az alkalmazott ligand kombinációk közül az alanin-GSH bizonyult a leghatékonyabbnak (Mészáros és mtsai., 2018).

(16) A nanohordozóba bezárt idegrendszeri gyógyszerhatóanyagoknak azonban nem elegendő csak az agyi endotélsejtek rétegén átjutni, a perivaszkuláris pericitákon és gliasejteken túl el kell érniük a terápiás célpontjaikat, az idegsejteket. Ezért megvizsgáltuk az eddigi kísérleteinkben sikeresen alkalmazott alanin-GSH kettős ligandkombinációval célzott nioszómák bejutását nemcsak az agyi endotélsejtekbe, hanem a neurovaszkuláris egység többi sejtípusába, a pericitákba, asztroglia sejtekbe és a neuronokba is (Porkoláb és mtsai., 2020). Eredményeink igazolták, hogy a neurovaszkuláris egység összes vizsgált sejtípusában lényegesen több EBA-t vettek fel a sejtek, ha az az alanin-GSH célzott nioszómákba volt töltve, mint ha nem célzott nanorészecskékbe. Ez a növekedés több mint kétszeres volt a pericitákban, ami az endocitózis és az NP-k plazmamembránnal való fúziója mellett azzal is összefügghet, hogy a periciták képesek a fagocitózisra is. Bár ezek a sejtek számos fontos, idegrendszeri folyamatot szabályoznak, az agyi pericitákat a célzott gyógyszerbejuttatás szempontjából eddig kevésbé vizsgálták. Az asztroglia sejtek és tumoraik viszont széles körben elismert gyógyszerkézpontok. Eredményeinkben kimutattuk, hogy a primer patkány asztrociták szignifikánsan jobban vették fel az alanin-GSH célzott nioszómák töltetét, mint a nem célzott NP-ket (Porkoláb és mtsai., 2020). Érdekes módon a legnagyobb különbséget az alanin-GSH és a nem célzott nioszómák felvétele között a differenciáltatott humán SH-SY5Y neuronális sejtekben mértük (Porkoláb és mtsai., 2020).

Következő lépésként a 24 órás vér-agy gát permeabilitási vizsgálat után sikeresen kimutattuk a fluoreszcens töltetet az élő asztroglia sejtekben is a célzott NP csoportban, ami azt jelzi, hogy az általunk előállított, alanin-GSH kettős ligandkombinációval célzott vezikuláris nanorészecskék nem csak átjutottak a patkány vér-agy gát modellen, de ezt követően képesek voltak bejutni az asztrocitákba is (Porkoláb és mtsai., 2020). Eredményeink arra utalnak, hogy a nanorészecskék alanin-GSH kettős jelölése, mely kombinációt mi alkalmaztuk először, potenciálisan kihasználható gyógyszerek, akár biofarmakonok vér-agy gáton keresztüli átjuttatására és az agy más, terápiás szempontból releváns sejtípusaiba történő bejuttatására.

(17) Annak igazolására, hogy az alanin-GSH vér-agy gátat célzó ligandkombináció a nanorészecskék anyagától függetlenül fokozhatja a vér-agy gát átjutást, más típusú, elágazó, polipeptid nanohordozókat is megvizsgáltunk (Mészáros és mtsai., 2023). Ezekben a vizsgálatokban háromkarú, poliglutaminsav anyagú, fluoreszcens rodaminnal jelölt alanin-

GSH célzott nanorészecskéket tanulmányoztunk. Fontos továbblépésként nem csak a humán vér-agy gáton való átjutásukat elemeztük, hanem agyi organoidokba való bejutásukat is (Mészáros és mtsai., 2023). Konfokális mikroszkópos és spektrofluorometriás vizsgálataink igazolták, hogy a polimer nanorészecskék sejtfelvétele a humán agyi endotélsejtekbe időfüggő módon és szignifikánsan magasabb volt a kettősen célzott nanorészecskék esetében a nem célzott NP csoporttal összehasonlítva. A nanorészecskék sejtbefutása itt is aktív, energiaigényes folyamat volt, amit az endocitózis gátlószerei csökkentettek (Mészáros és mtsai., 2023).

Ebben a kísérletsorozatban azt is megvizsgáltuk, hogy a polimer nanorészecskék képesek-e átjutni a vér-agy gáton és azt követően be tudnak-e jutni agyi organoidokba. Ennek méréséhez egy módosított humán ko-kultúra vér-agy gát modellt hoztunk létre, ahol a tenyésztőbetéteken növesztett agyi endotélsejtek és periciták alá a sejtenyésző lemezek alá egészséges donorok, illetve Parkinson-kóros betegek őssejtjeiből származó közepagy-specifikus organoidokat helyeztünk. Megállapítottuk, hogy az alanin-GSH kettős ligandkombinációval ellátott polipeptid nanohordozók nem csak szignifikánsan jobban jutnak át a vér-agy gát modellen a nem célzott részecskékkel összehasonlítva, hanem képesek az agyi organoidokba is hatékonyabban bejutni (Mészáros és mtsai., 2023).

Ezzel igazoltuk azt a hipotézisünket, hogy a nanorészecskékhez kötött alanin-GSH, mint célzóligand kombináció jelenléte kulcsfontosságú, és a részecskék anyagától függetlenül mind vezikuláris nanohordozók (Mészáros és mtsai., 2018, Porkoláb és mtsai., 2020), mind elágazó polipeptid NP-k (Mészáros és mtsai., 2023) esetében hatékonyabb sejtbefutást, vér-agy gáton való átjutást, és asztroglia, illetve agyi organoidokba való bejutást eredményez. Legújabb, 2025. februárjában megjelent közleményünkben pedig azt is igazoltuk, hogy a háromkarú alanin-GSH célzott polipeptid nanorészecskék az ibuprofén és a dopamin aktív hatóanyagok jobb átjutását eredményezik a vér-agy gáton át, és elősegítik agyi organoidokba való bejutásukat (Mészáros és mtsai., 2025). Kimutattuk, azt is, hogy a szabad célzóligandok gátolták a célzott nanohordozók felvételét, ami a ligandok döntő szerepére utal a sejtfelvételi folyamatban (Mészáros és mtsai., 2025). Bebizonyítottuk, hogy a citokinekkel kiváltott vér-agy gát sérülést az ibuprofén tartalmú, alanin-GSH célzott polipeptid nanorészecskék jelentősen mérsékeltek a szabad ibuprofénhez vagy a nem célzott nanorészecskékhez képest. Ez a hatás azzal magyarázható, hogy az általunk megtervezett kettősen célzott nanohordozók elősegítik az ibuprofén internalizációját és ezzel a gyulladáscsökkentő hatását az agyi endotélsejtekben (Mészáros és mtsai., 2025).

(18) A nanorészecskéink tervezésekor hipotézisünk mindvégig az volt, hogy az agyi endotélsejtek felszíni SLC transzporter mintázatának leginkább megfelelő, többszörös, kettős vagy akár hármas ligandkombinációval jelölt nanohordozók hatékonyabban fognak átjutni a vér-agy gáton, jelentősen növelve ezzel a gyógyszerek agyi bejuttatását. A kettős célzás mellett ezért hármas ligandkombinációt is terveztünk. A GSH mellé az alanin helyett egy másik aminosavat, a vér-agy gát LAT1 transzporének ligandját, a leucint, és harmadik célzómolekulaként az aszkorbinsavat választottuk ki, amely a nátrium-aszkorbinsav ko-transzporter SVCT, illetve oxidált állapotban a GLUT1 ligandja (Veszélka és mtsai., 2022). Az így előállított aszkorbinsav-GSH-leucin hármas ligandkombinációval előállított nioszómákkal végzett kísérleteinkben megállapítottuk, hogy a célzott nanorészecskék jóval hatékonyabban jutnak be az agyi endotélsejtekbe, jutnak át a vér-agy gáton és internalizálódnak agyi organoidokba (Veszélka és mtsai., 2022). Ugyan az irodalomban az aszkorbinsav és a GSH, mint egyszeres célzóligand hatékonyságát is igazolták már nanorészecske felszínéhez kötve agyi gyógyszerbejuttatás fokozására, a leucint mint lehetséges nanorészecske célzómolekulát, mi írtuk le először. Hasonlóképpen mi állítottunk elő sikeresen elsőként és vizsgáltunk különböző SLC transzportereket egyszerre célzó, aszkorbinsav-GSH-leucin hármas ligand

kombinációval ellátott nanorészecskéket és igazoltuk hatékony átjutásukat a vér-agy gáton és bejutásukat agyi organoidokba.

Nanorészecskékkel kapott eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a részecskék célzása kulcsfontosságú a sikeres agyi gyógyszerbejuttatáshoz, és a részecskék felszínének egynél többféle, a vér-agy gát transzportereihez kötődni képes célzó molekulával történő jelölése szignifikánsan megnövelheti az agyi célzás specificitását, és erősebb dokkolást eredményezhet az agyi endotélsejtek felszínéhez, elősegítve ezzel a nanorészecskék endocitózisát az agyi endotélsejtekbe, átjutását a vér-agy gáton, valamint bejutását a gliasejtekbe és neuronokba, melyek a gyógyszerhatóanyagok terápiás célpontjai.

Az értekezésemben bemutatott eredmények felhívják a figyelmet a különböző sejtenyészetes vér-agy gát modellek különbözőségére, az egyes modellek előnyeire és hátrányaira és a megfelelő modell körütekintő kiválasztásának fontosságára. A kollégáimmal, lelkes diákjaimmal és együttműködő partnereink segítségével tett megfigyeléseink hozzájárulnak a vér-agy gát működésének jobb megértéséhez mind fiziológiás mind pedig patológiás körülmények esetében. Reményeink szerint az általunk leírt, az agyi gyógyszerbejuttatás fokozására irányuló módszerek hozzájárulhatnak a jövőben új terápiás lehetőségek kidolgozásához és az idegrendszeri betegségek hatékonyabb kezeléséhez.

5. Az értekezés legfontosabb megállapításai

- Jelentős különbségeket mutattunk ki a szoros gátfunkciókért felelős, valamint a gyógyszerek transzportjában és metabolizmusában szerepet játszó fehérjék kifejeződésében az endotélsejtes vér-agy gát, és az epitélsejtes modellekben. A tesztelt gyógyszerhatóanyagok *in vitro* permeabilitási adatait az *in vivo* adatokkal összevetve a legjobb korrelációt, az EPA modell esetében figyeltük meg. Igazoltuk, hogy a vizsgált kilenc sejtenyészetes modell közül a primer sejtalapú EPA modell tükrözi a legpontosabban a vér-agy gát morfológiai és funkcionális tulajdonságait.
- Elsőként bizonyítottuk, hogy a klinikumban alkalmazott edaravon képes nemcsak az agyi endotélsejtek életképességét megővni a karbonil stresszt okozó metilglioxállal szemben, hanem a vér-agy gát megnövekedett permeabilitását és működését is képes visszaállítani a károsodást követően.
- Igazoltuk krónikus stressz hatására az ultrastrukturális változásokat és morfológiai deformitásokat agyi kapillárisok endotélsejtjeiben. Kimutattuk a szoros sejtkapcsolatok felszakadozottságát és a gliavégtagok ödémára utaló megrögződését. Eredményeink ezzel hozzájárulnak a stressz által kiváltott vér-agy gát permeabilitási és funkcionális változások megértéséhez, amelyek szerepet játszanak a stresszel kapcsolatos neurológiai és pszichiátriai betegségek patogenezisében.
- Igazoltuk a humán ateroszklerózis modelljében APOB-100 transzgenikus egerekben a vér-agy gát károsodásait. Bizonyítottuk, hogy az APOB-100 modell hasznos eszköz lehet a vaszkuláris eredetű neurodegeneratív betegségek tanulmányozására és hatékonyabb terápiák kifejlesztésére.
- Elsőként írtuk le az AT-1002 és a 7-mer peptid peptid permeabilitás fokozó hatását agyi endotélsejteken. Kimutattuk, hogy a tesztelt TJ modulátor peptidok közül a vér-agy gát áteresztőképességének fokozásában a PN-159/KLAL peptid bizonyult a

leghatékonyabbnak, melynek lehetséges kötőpartnereit a klaudin-1 és a kaludin-5 fehérjét is azonosítottuk.

- Igazoltuk, hogy a klaudin-5 fehérje eredetű C5C2 peptidomimetikum és a tamoxifen származék tezmilifen reverzibilis módon képes megnyitni a vér-agy gátat, és alkalmas lehet gyógyszerek agyi bejutásának növelésére.
- Kimutattuk, hogy a vér-agy gát receptor-mediált transzcitózis útvonalát célzó ApoE molekula nanorészecskék célzóligandjaként nemcsak a donepezil töltet vér-agy gáton való átjutását segíti elő, hanem a neuronokba való bejutását is, ami előnyös lehet központi idegrendszeri betegségek, például Alzheimer-kór terápiájában, ahol a terápiás célpontok az idegsejtek.
- Igazoltuk, hogy a kationos PepH3 peptid nanohordozók célzómolekulájaként a vér-agy gát adszorptív transzcitózis útvonalát kihasználva hatékonyan megnöveli a nagyméretű terápiás biomolekulák, antitestek vér-agy gáton való átjutását.
- Elsőként igazoltuk, hogy a biotin alkalmas lehet nanorészecskék célzóligandjaként és potenciálisan felhasználható gyógyszerek agyi bejuttatására.
- Sikeresen kidolgoztunk egy új, innovatív optikai lézercsipesz technikát, mellyel elsőként sikerült kimérnünk a GSH, mint célzóligand közvetlen kötődési erősségét élő agyi endotélsejtek sejtfelszínéhez. Az általunk kidolgozott innovatív optikai lézercsipesz módszer egyben alkalmas új vér-agy gátat célzó ligandok tesztelésére és kiválasztására a kötődési erők mérése alapján.
- Igazoltuk, hogy az általunk szabadalmaztatott cARLA molekulakombináció a vér-agy gát specifikus fehérjék expressziójának növelésével elősegíti a nanorészecskék felszínéhez kötött GSH molekula vér-agy gát-specifikus célzó hatását.
- Bizonyítottuk, hogy az egyszeres liganddal célzott nanorészecskékhez képest a kettős kombinációval célzott nioszómák szignifikánsan jobb permeabilitást mutattak az *in vitro* vér-agy gát modellen keresztül, amit *in vivo* is igazolni tudtunk.
- Igazoltuk, hogy a nanorészecskékhez kötött alanin-GSH, mint célzóligand kombináció jelenléte kulcsfontosságú, mely a részecskék anyagától függetlenül vezikuláris nanohordozók és elágazó polipeptid nanorészecskék esetében is egyaránt hatékonyabb sejtbejutást, vér-agy gáton való átjutást és agyi organoidokba való bejutást eredményez. Az alanin-GSH kombinációt nanohordozók célzóligandjaként mi írtuk le először.
- Elsőként mutattuk be a leucint mint célzómolekulát nanorészecskék felszínéhez kötve, és elsőként állítottunk elő és teszteltünk sikeresen három SLC transzportert egyszerre célzó, aszkorbinsav-GSH-leucin ligand kombinációval ellátott nanorészecskéket és igazoltuk hatékony átjutásukat a vér-agy gáton és bejutásukat agyi organoidokba.
- Igazoltuk, hogy a nanorészecskék célzása kulcsfontosságú a sikeres agyi gyógyszerbejuttatáshoz, és a részecskék felszínének egynél többféle, a vér-agy gát transzportereihez kötődni képes célzómolekulával történő jelölése szignifikánsan megnöveli az agyi célzás specificitását, és erősebb dokkolást eredményez az agyi endotélsejtek felszínéhez, elősegítve ezzel a nanorészecskék endocitózist az agyi endotélsejtekbe, átjutását a vér-agy gáton valamint bejutását a gliasejtekbe és neuronokba, melyek a gyógyszerhatóanyagok terápiás célpontjai.

6. Az értekezésben felhasznált közlemények

1. Hellinger E, **Veszelka S**, Tóth AE, Walter F, Kittel A, Bakk ML, Tihanyi K, Háda V, Nakagawa S, Duy TD, Niwa M, Deli MA, Vastag M. Comparison of brain capillary endothelial cell-based and epithelial (MDCK-MDR1, Caco-2, and VB-Caco-2) cell-based surrogate blood-brain barrier penetration models. *Eur J Pharm Biopharm.* 2012 Oct;82(2):340-51. IF: 3,826, Független idézetek száma: 169
2. **Veszelka S**, Tóth A, Walter FR, Tóth AE, Gróf I, Mészáros M, Bocsik A, Hellinger É, Vastag M, Rákhely G, Deli MA. Comparison of a Rat Primary Cell-Based Blood-Brain Barrier Model With Epithelial and Brain Endothelial Cell Lines: Gene Expression and Drug Transport. *Front Mol Neurosci.* 2018 May 22; 11:166. IF: 3,72, Független idézetek száma: 66
3. Tóth AE, Tóth A, Walter FR, Kiss L, **Veszelka S**, Ózsvári B, Puskás LG, Heimesaat MM, Dohgu S, Kataoka Y, Rákhely G, Deli MA. Compounds blocking methylglyoxal-induced protein modification and brain endothelial injury. *Arch Med Res.* 2014a Nov ;45(8):753-64. IF: 2,645, Független idézetek száma: 28
4. Tóth AE, Walter FR, Bocsik A, Sántha P, **Veszelka S**, Nagy L, Puskás LG, Couraud PO, Takata F, Dohgu S, Kataoka Y, Deli MA. Edaravone protects against methylglyoxal-induced barrier damage in human brain endothelial cells. *PLoS One.* 2014b Jul 17;9(7):e100152. IF: 3,234, Független idézetek száma: 45
5. Sántha P, **Veszelka S**, Hoyk Z, Mészáros M, Walter FR, Tóth AE, Kiss L, Kincses A, Oláh Z, Seprényi G, Rákhely G, Dér A, Pákáski M, Kálmán J, Kittel Á, Deli MA. Restraint Stress-Induced Morphological Changes at the Blood-Brain Barrier in Adult Rats. *Front Mol Neurosci.* 2016 Jan 14; 8:88. IF: 5,076, Független idézetek száma: 109
6. Hoyk Z, Tóth ME, Lénárt N, Nagy D, Dukay B, Csefová A, Zvara Á, Seprényi G, Kincses A, Walter FR, **Veszelka S**, Vigh J, Barabási B, Harazin A, Kittel Á, Puskás LG, Penke B, Vigh L, Deli MA, Sántha M. Cerebrovascular Pathology in Hypertriglyceridemic APOB-100 Transgenic Mice. *Front Cell Neurosci.* 2018 Oct 25; 12:380. IF: 3,9, Független idézetek száma: 10
7. Bocsik A, Walter FR, Gyebrovski A, Fülöp L, Blasig I, Dabrowski S, Ötvös F, Tóth A, Rákhely G, **Veszelka S**, Vastag M, Szabó-Révész P, Deli MA. Reversible Opening of Intercellular Junctions of Intestinal Epithelial and Brain Endothelial Cells With Tight Junction Modulator Peptides. *J Pharm Sci.* 2016 Feb ;105(2):754-765. IF: 2,713, Független idézetek száma: 64
8. Dithmer S, Staat C, Müller C, Ku MC, Pohlmann A, Niendorf T, Gehne N, Fallier-Becker P, Kittel Á, Walter FR, **Veszelka S**, Deli MA, Blasig R, Haseloff RF, Blasig IE, Winkler L. Claudin peptidomimetics modulate tissue barriers for enhanced drug delivery. *Ann N Y Acad Sci.* 2017 Jun;1397(1):169-184. IF: 4,277, Független idézetek száma: 52

9. Walter FR, **Veszelka S**, Pásztói M, Péterfi ZA, Tóth A, Rákhely G, Cervenak L, Ábrahám CS, Deli MA. Tesmilifene modifies brain endothelial functions and opens the blood-brain/blood-glioma barrier. *J Neurochem*. 2015 Sep;134(6):1040-54. IF: 3,842, Független idézetek száma: 18
10. Topal GR, Mészáros M, Porkoláb G, Szecskó A, Polgár TF, Siklós L, Deli MA, **Veszelka S***, Bozskir A*. ApoE-Targeting Increases the Transfer of Solid Lipid Nanoparticles with Donepezil Cargo across a Culture Model of the Blood-Brain Barrier. *Pharmaceutics*. 2020 Dec 29;13(1):38. IF: 6,525, Független idézetek száma: 85
11. Szecskó A, Mészáros M, Simões B, Cavaco M, Chaparro C, Porkoláb G, Castanho M A.R.B., Deli M, Neves V, **Veszelka S**. PepH3 peptide derived from Dengue virus capsid protein enhances the entry of nanocarriers into brain endothelial cells and their translocation across the blood-brain barrier. *Fluids Barriers CNS*. 2025 Apr 1;22(1):31. IF: 5,9, Független idézetek száma: 0
12. **Veszelka S**, Meszaros M, Kiss L, Kota Z, Pali T, Hoyk Z, Bozso Z, Fulop L, Toth A, Rakhely G, Deli MA. Biotin and Glutathione Targeting of Solid Nanoparticles to Cross Human Brain Endothelial Cells. *Curr Pharm Des*. 2017;23(28):4198-4205. IF: 2,757, Független idézetek száma: 17
13. Fekete T, Mészáros M, Szegletes Z, Vizsnyiczai G, Zimányi L, Deli MA, **Veszelka* S**, Kelemen L*. Optically Manipulated Microtools to Measure Adhesion of the Nanoparticle-Targeting Ligand Glutathione to Brain Endothelial Cells. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2021 Aug 25;13(33):39018-39029. IF: 10,383, Független idézetek száma: 6
14. Porkoláb G, Mészáros M, Szecskó A, Vigh JP, Walter FR, Figueiredo R, Kálomista I, Hoyk Z, Vizsnyiczai G, Gróf I, Jan JS, Gosselet F, Pirity MK, Vastag M, Hudson N, Campbell M, **Veszelka S**, Deli MA. Synergistic induction of blood-brain barrier properties. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2024 May 21;121(21): e2316006121. IF: 9,4, Független idézetek száma: 2
15. Mészáros M, Porkoláb G, Kiss L, Pilbat AM, Kóta Z, Kupihár Z, Kéri A, Galbács G, Siklós L, Tóth A, Fülöp L, Csete M, Sipos Á, Hülper P, Sipos P, Páli T, Rákhely G, Szabó-Révész P, Deli MA, **Veszelka S**. Niosomes decorated with dual ligands targeting brain endothelial transporters increase cargo penetration across the blood-brain barrier. *Eur J Pharm Sci*. 2018 Oct 15; 123:228-240. IF: 3,532, Független idézetek száma: 37
16. Porkoláb G, Mészáros M, Tóth A, Szecskó A, Harazin A, Szegletes Z, Ferenc G, Blastyák A, Mátés L, Rákhely G, Deli MA, **Veszelka S**. Combination of Alanine and Glutathione as Targeting Ligands of Nanoparticles Enhances Cargo Delivery into the Cells of the Neurovascular Unit. *Pharmaceutics*. 2020 Jul 7;12(7):635. IF: 6,321, Független idézetek száma: 11
17. Mészáros M, Phan THM, Vigh JP, Porkoláb G, Kocsis A, Páli EK, Polgár TF, Walter FR, Bolognin S, Schwamborn JC, Jan JS, Deli MA, **Veszelka S**. Targeting Human Endothelial Cells with Glutathione and Alanine Increases the Crossing of a Polypeptide Nanocarrier through a Blood-Brain Barrier Model and Entry to Human Brain Organoids. *Cells*. 2023 Feb 3;12(3):503. IF: 5,1, Független idézetek száma: 7

18. **Veszelka S**, Mészáros M, Porkoláb G, Szecskó A, Kondor N, Ferenc G, Polgár TF, Katona G, Kóta Z, Kelemen L, Páli T, Vigh JP, Walter FR, Bolognin S, Schwamborn JC, Jan JS, Deli MA. A Triple Combination of Targeting Ligands Increases the Penetration of Nanoparticles across a Blood-Brain Barrier Culture Model. *Pharmaceutics*. 2021 Dec 30;14(1):86. IF: 5,4, Független idézetek száma: 14

Az értekezés témájához kapcsolódó összefoglaló közlemények:

19. Campos-Bedolla P, Walter FR, **Veszelka S**, Deli MA. Role of the blood-brain barrier in the nutrition of the central nervous system. *Arch Med Res*. 2014 Nov 45(8):610-38. IF: 2,645, Független idézetek száma: 152
20. **Veszelka, S**, Bocsik, A, Walter, F, Hantosi, D, Deli, MA Blood-brain barrier co-culture models to study nanoparticle penetration: focus on co-culture systems *Acta Biologica Szegediensis* 2015 59: Suppl. 2. pp. 157-168., 12 p. IF: -, Független idézetek száma: 13
21. Walter FR, Santa-Maria AR, Mészáros M, **Veszelka S**, Dér A, Deli MA. Surface charge, glycocalyx, and blood-brain barrier function. *Tissue Barriers*. 2021 Jul 3;9(3):1904773. IF: -, Független idézetek száma: 47
22. Deli MA, Porkoláb G, Kincses A, Mészáros M, Szecskó A, Kocsis AE, Vigh JP, Valkai S, **Veszelka S**, Walter FR, Dér A. Lab-on-a-chip models of the blood-brain barrier: evolution, problems, perspectives. *Lab Chip*. 2024 Feb 27;24(5):1030-1063. IF: 6,1, Független idézetek száma: 9

(*megosztott utolsó/levelező szerzők)

Az értekezésben szereplő közlemények

összesített impakt faktora: 103,196

ezekre kapott független idézetek száma (MTMT, 2025.03.10.): 961

Az értekezés témájához tartozó szabadalom: 1

„Cocktail for induction of blood-brain barrier properties”-cARLA,

Hungarian Patent Application: P2300053;

International Patent Application: PCT/HU2023/050070

7. További, az értekezés alapját nem képező, de az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények a PhD fokozat megszerzése óta

1. Zandona A, Szecskó A, Žunec S, Jovanović IN, Bušić V, Sokač DG, Deli MA, Katalinić M, **Veszelka S**. Nicotinamide derivatives protect the blood-brain barrier against oxidative stress. *Biomed Pharmacother*. 2025 Apr 1;186:118018. IF: 6,9, Független idézetek száma: 0
2. Mária Mészáros, Thi Ha My Phan, Judit P. Vigh, Gergő Porkoláb, Anna Kocsis, Anikó Szecskó, Emese K. Páli, Nárcisz M. Cser, Tamás F. Polgár, Gábor Kecskeméti, Fruzsina

R. Walter, Jens C. Schwamborn, Tamás Janáky, Jeng-Shiung Jan, **Szilvia Veszelka*** and Mária A. Deli*. Alanine and glutathione targeting of dopamine- or ibuprofen-coupled polypeptide nanocarriers increases both crossing and protective effects on a blood–brain barrier model. *Fluids and Barriers of the CNS* 22: 1 Paper: 18, 2 (2025), IF: 5,9, Független idézetek száma: 0

(*megosztott utolsó/levelező szerzők)

3. **Veszelka, Szilvia**; Burek, Malgorzata; Thomas, Sarah Ann. Editorial: Women in CNS drug delivery: 2022–2024 *FRONTIERS IN DRUG DELIVERY* 4 Paper: fddev.2024.1400937 2024. IF: -, Független idézetek száma: -
4. Sipos B, Bella Z, Gróf I, **Veszelka S**, Deli MA, Szűcs KF, Sztojkov-Ivanov A, Ducza E, Gáspár R, Kecskeméti G, Janáky T, Volk B, Budai-Szűcs M, Ambrus R, Szabó-Révész P, Csóka I, Katona G. Soluplus® promotes efficient transport of meloxicam to the central nervous system via nasal administration. *Int J Pharm.* 2023 Feb 5; 632:122594. IF: 5,3, Független idézetek száma: 10
5. Walter FR, Harazin A, Tóth AE, **Veszelka S**, Santa-Maria AR, Barna L, Kincses A, Biczó G, Balla Z, Kui B, Maléth J, Cervenak L, Tubak V, Kittel Á, Rakonczay Z Jr, Deli MA. Blood-brain barrier dysfunction in L-ornithine induced acute pancreatitis in rats and the direct effect of L-ornithine on cultured brain endothelial cells. *Fluids Barriers CNS.* 2022 Feb 17;19(1):16. IF: 7,3, Független idézetek száma: 11
6. Lee MH, Jan JS, Thomas JL, Shih YP, Li JA, Lin CY, Ooya T, Barna L, Mészáros M, Harazin A, Porkoláb G, **Veszelka S**, Deli MA, Lin HY. Cellular Therapy Using Epitope-Imprinted Composite Nanoparticles to Remove α -Synuclein from an In Vitro Model. *Cells.* 2022 Aug 19;11(16):2584. IF: 6, Független idézetek száma: 4
7. **Veszelka S**, Mészáros M, Porkoláb G, Rusznyák Á, Réti-Nagy KS, Deli MA, Vecsernyés M, Bácskay I, Váradi J, Fenyvesi F. Effects of Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin on Cultured Brain Endothelial Cells. *Molecules.* 2022 Nov 10;27(22):7738. IF: 4,6, Független idézetek száma: 2
8. Katona G, Sipos B, Budai-Szűcs M, Balogh GT, **Veszelka S**, Gróf I, Deli MA, Volk B, Szabó-Révész P, Csóka I. Development of In Situ Gelling Meloxicam-Human Serum Albumin Nanoparticle Formulation for Nose-to-Brain Application. *Pharmaceutics.* 2021 May 1;13(5):646. IF: 6,525, Független idézetek száma: 10
9. Akel H, Csóka I, Ambrus R, Bocsik A, Gróf I, Mészáros M, Szecskó A, Kozma G, **Veszelka S**, Deli MA, Kónya Z, Katona G. In Vitro Comparative Study of Solid Lipid and PLGA Nanoparticles Designed to Facilitate Nose-to-Brain Delivery of Insulin. *Int J Mol Sci.* 2021 Dec 9;22(24):13258. IF: 6,208, Független idézetek száma: 41
10. Bartus É, Olajos G, Schuster I, Bozsó Z, Deli MA, **Veszelka S**, Walter FR, Datki Z, Szakonyi Z, Martinek TA, Fülöp L. Structural Optimization of Foldamer-Dendrimer Conjugates as Multivalent Agents against the Toxic Effects of Amyloid Beta Oligomers. *Molecules.* 2018 Oct 2;23(10):2523. IF: 3,06, Független idézetek száma: 9
11. Kovács T, Billes V, Komlós M, Hotzi B, Manzéger A, Tarnóci A, Papp D, Szikszai F, Szinyákovics J, Rácz Á, Noszál B, **Veszelka S**, Walter FR, Deli MA, Hackler L Jr, Alföldi

- R, Huzian O, Puskas LG, Liliom H, Tárnok K, Schlett K, Borsy A, Welker E, Kovács AL, Pádár Z, Erdős A, Legradi A, Bjelik A, Gulya K, Gulyás B, Vellai T.
The small molecule AUTEN-99 (autophagy enhancer-99) prevents the progression of neurodegenerative symptoms. *Sci Rep.* 2017 Feb 16; 7:42014. IF: 4,122, Független idézetek száma: 33
12. Walter, FR; Valkai, S; Kincses, A; Petneházi, A; Czeller, T; **Veszélka, S**; Ormos, P; Deli, MA; Dér, A. A versatile lab-on-a-chip tool for modeling biological barriers. *SENSORS AND ACTUATORS B-CHEMICAL* 222 pp. 1209-1219. 11 p. 2016. IF: 5,401, Független idézetek száma: 135
 13. **Veszélka, S**; Toth, A; Walter, FR; Toth, AE; Meszaros, M; Vastag, M; Rakhely, G; Deli, MA Comparison of the expression of selected blood-brain barrier function related genes in a rat primary cell based blood-brain barrier model versus epithelial and endothelial cell lines In: Birger, Brodin (szerk.) 19th International Symposium on Signal Transduction at the Blood-Brain Barriers, University of Copenhagen (2016) Paper: P-25 Közlemény:3120196 Egyéb konferenciaközlemény (Absztrakt/Kivonat), IF: -, Független idézetek száma: -
 14. Horváth T, Bartos C, Bocsik A, Kiss L, **Veszélka S**, Deli MA, Újhelyi G, Szabó-Révész P, Ambrus R. Cytotoxicity of Different Excipients on RPMI 2650 Human Nasal Epithelial Cells. *Molecules.* 2016 May 18;21(5):658. IF: 2,861, Független idézetek száma: 16
 15. Meszaros, M; Kiss, L; Hantosi, D; Bozso, Z; Fulop, L; Szalontai, B; Kota, Z; Sipos, P; Szabo-Revesz, P; Deli, MA, **Veszélka S**. Targeted nanoparticles for brain delivery using nutrient transporters of the blood-brain barrier. In: Birger, Brodin (szerk.) 19th International Symposium on Signal Transduction at the Blood-Brain Barriers University of Copenhagen (2016) Paper: P-6. Közlemény:3120200 Egyéb konferenciaközlemény. IF:-, Független idézetek száma: -
 16. Bogar, F; Simon, D; Bozso, Z; Janaky, T; **Veszélka, S**; Toth, AE; Deli, MA; Borics, A; Nasztor, Z; Gyebrovski, A et al. Opposite effect of Ca²⁺/Mg²⁺ ions on the aggregation of native and precursor-derived A β 42. *Structural Chemistry* 26: 5-6 pp. 1389-1403. 15 p. (2015) IF: 1,854, Független idézetek száma: 2
 17. Tóth, AE; Walter, FR; Bocsik, A; **Veszélka, S**; Nagy, L; Puskás, LG; Dohgu, S; Watanabe, T; Kataoka, Y; Deli, MA. Az edaravon megvédi az agyi hajszálerek endothelsejtjeit a cukorbetegség egyik patogenetikus faktora, a metilglioxál okozta károsodástól: [Edaravone protects cerebral microvascular endothelial cells against damage caused by methylglyoxal, a pathogenic factor in diabetes mellitus] *DIABETOLOGIA HUNGARICA* 22 pp. 138-139. 2 p. 2014. IF: -, Független idézetek száma: -
 18. Kiss L, Hellinger É, Pilbat AM, Kittel Á, Török Z, Füredi A, Szakács G, **Veszélka S**, Sipos P, Özsvári B, Puskás LG, Vastag M, Szabó-Révész P, Deli MA. Sucrose esters increase drug penetration, but do not inhibit p-glycoprotein in caco-2 intestinal epithelial cells. *J Pharm Sci.* 2014 Oct;103(10):3107-19. IF:2,59, Független idézetek száma: 34

19. Farkas, Csaba; **Veszélka, Szilvia** (Az interjút adta) "Trójai falóval" a vér-agy gáton át. Veszélka Szilviával beszélget Farkas Csaba TERMÉSZET VILÁGA 145: 5 pp. 217-218. 2 p. 2014. IF: -, Független idézetek száma: -
20. Hülper P, **Veszélka S**, Walter FR, Wolburg H, Fallier-Becker P, Piontek J, Blasig IE, Lakomek M, Kugler W, Deli MA. Acute effects of short-chain alkylglycerols on blood-brain barrier properties of cultured brain endothelial cells. Br J Pharmacol. 2013 aug;169(7):1561-73. IF: 4,99, Független idézetek száma: 29
21. **Veszélka S**, Tóth AE, Walter FR, Datki Z, Mózes E, Fülöp L, Bozsó Z, Hellinger E, Vastag M, Orsolits B, Környei Z, Penke B, Deli MA. Docosahexaenoic acid reduces amyloid- β induced toxicity in cells of the neurovascular unit. J Alzheimers Dis. 2013;36(3):487-501. IF: 3,612, Független idézetek száma: 29
22. **Veszélka S**, Laszy J, Pázmány T, Németh L, Obál I, Fábián L, Szabó G, Abrahám CS, Deli MA, Urbányi Z. Efflux transport of serum amyloid P component at the blood-brain barrier. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2013 Dec;3(4):281-9. IF:-, Független idézetek száma: 8
23. Kürti L, Gáspár R, Márki Á, Kápolna E, Bocsik A, **Veszélka S**, Bartos C, Ambrus R, Vastag M, Deli MA, Szabó-Révész P. In vitro and in vivo characterization of meloxicam nanoparticles designed for nasal administration. Eur J Pharm Sci. 2013 Sep 27;50(1):86-92. IF: 3,005, Független idézetek száma: 31
24. Kiss L, Walter FR, Bocsik A, **Veszélka S**, Ozsvári B, Puskás LG, Szabó-Révész P, Deli MA. Kinetic analysis of the toxicity of pharmaceutical excipients Cremophor EL and RH40 on endothelial and epithelial cells. J Pharm Sci. 2013 Apr;102(4):1173-81. IF: 3,007, Független idézetek száma: 82
25. Kürti L, **Veszélka S**, Bocsik A, Ozsvári B, Puskás LG, Kittel A, Szabó-Révész P, Deli MA. Retinoic acid and hydrocortisone strengthen the barrier function of human RPMI 2650 cells, a model for nasal epithelial permeability. Cytotechnology. 2013 May;65(3):395-406. IF: 1,449, Független idézetek száma: 29
26. Ujhelyi, Z; Fenyvesi, F; Váradi, J; Fehér, P; Kiss, T; **Veszélka, S**; Deli, MA; Vecsernyés, M; Bácskay, I. Evaluation of cytotoxicity of surfactants used in self-micro emulsifying drug delivery systems and their effects on paracellular transport in Caco-2 cell monolayer European Journal of Pharmaceutical Sciences 47: 3 pp. 564-573. 10 p. (2012) IF: 2,98, Független idézetek száma: 155
27. Cardoso FL, Kittel A, **Veszélka S**, Palmela I, Tóth A, Brites D, Deli MA, Brito MA. Exposure to lipopolysaccharide and/or unconjugated bilirubin impair the integrity and function of brain microvascular endothelial cells. PLoS One. 2012;7(5): e35919. IF: 3,73, Független idézetek száma: 90
28. Kürti L, **Veszélka S**, Bocsik A, Dung NT, Ozsvári B, Puskás LG, Kittel A, Szabó-Révész P, Deli MA. The effect of sucrose esters on a culture model of the nasal barrier. Toxicol In Vitro. 2012 Apr;26(3):445-54. IF: 2,65, Független idézetek száma: 27

29. Tóth A, **Veszélka S**, Nakagawa S, Niwa M, Deli MA. Patented in vitro blood-brain barrier models in CNS drug discovery. Recent Pat CNS Drug Discov. 2011 May 1;6(2):107-18. IF: -, Független idézetek száma: 54
30. Fenyvesi F, Kiss T, Fenyvesi E, Szenté L, **Veszélka S**, Deli MA, Váradi J, Fehér P, Ujhelyi Z, Tótsaki A, Vecsernyés M, Bácskay I. Randomly methylated β -cyclodextrin derivatives enhance taxol permeability through human intestinal epithelial Caco-2 cell monolayer. J Pharm Sci. 2011 nov;100(11):4734-44. IF: 3,055, Független idézetek száma: 30
31. **Veszélka, S**; Kittel, Á; Deli, MA. Tools of Modelling Blood-Brain Barrier Penetrability In: Tihanyi, K; Vastag, M (szerk.) Solubility, Delivery and ADME Problems of Drugs and Drug-Candidates Washington DC, Amerikai Egyesült Államok: Bentham Science Publishers Ltd. (2011) 232 p. pp. 166-188., 23 p. IF: -, Független idézetek száma: 12
32. Sipos E, Kurunczi A, Fehér A, Penke Z, Fülöp L, Kasza A, Horváth J, Horvát S, **Veszélka S**, Balogh G, Kürti L, Eros I, Szabó-Révész P, Párducz A, Penke B, Deli MA. Intranasal delivery of human beta-amyloid peptide in rats: effective brain targeting. Cell Mol Neurobiol. 2010 Apr;30(3):405-13. IF: 2,423, Független idézetek száma: 24
33. Deli MA, **Veszélka S**, Csiszár B, Tóth A, Kittel A, Csete M, Sipos A, Szalai A, Fülöp L, Penke B, Abrahám CS, Niwa M. Protection of the blood-brain barrier by pentosan against amyloid- β -induced toxicity. J Alzheimers Dis. 2010;22(3):777-94. IF: 4,261, Független idézetek száma: 27
34. Horvát S, Fehér A, Wolburg H, Sipos P, **Veszélka S**, Tóth A, Kis L, Kurunczi A, Balogh G, Kürti L, Eros I, Szabó-Révész P, Deli MA. Sodium hyaluronate as a mucoadhesive component in nasal formulation enhances delivery of molecules to brain tissue. Eur J Pharm Biopharm. 2009 May;72(1):252-9. IF: 3,151, Független idézetek száma: 79
35. Hutamekalin P, Farkas AE, Orbók A, Wilhelm I, Nagyoszi P, **Veszélka S**, Deli MA, Buzás K, Hunyadi-Gulyás E, Medzihradszky KF, Meksuriyen D, Krizbai IA. Effect of nicotine and polyaromatic hydrocarbons on cerebral endothelial cells. Cell Biol Int. 2008 feb;32(2):198-209. IF: 1,619, Független idézetek száma: 37

Az értekezés alapját nem képező, de az értekezés témájához kapcsolódó saját közlemények a PhD fokozat megszerzése óta:

összesített impakt faktor: 97,166

ezekre kapott független idézetek száma (MTMT, 2025.03.10.): 1050

Tudományos mutatók a teljes életműre vonatkoztatva (MTMT, 2025.04.16.):

Összes közlemények száma: 65 (ebből könyvfejezet: 1)

Első szerzős folyóiratcikk: 9

Utolsó/levelező szerzős folyóiratcikk: 8

Összes hivatkozások száma: 3012

Független hivatkozások száma: 2466

Összesített impakt faktor: 213,751

Hirsch index: 31

Szabadalom: 1

Scientometrics.org/mtmt/: D1

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel és hálával tartozom mindenekelőtt Mentoromnak és jelenlegi intézeti igazgatónak, Prof. Deli Mária akadémikusnak, aki szakdolgozati témát kereső egyetemi hallgatóként lehetőséget adott nekem csoportjában a kutatói munkám megkezdésére, és lelkesedésével és motiváló erejével a mai napig támogatja szakmai pályámat.

Hálával tartozom a néhai Ngo Thi Khue Dungnak, aki végtelen türelemmel és odafigyeléssel megtanított a steril sejtenyésztés és a laboratóriumi munka alapjaira.

Köszönettel tartozom az együtt elért szakmai sikerekért és az alkotómunkát segítő baráti és családi légkörért a Biológiai Barrierék Kutatócsoport valamennyi volt és jelenlegi munkatársának, kollégáimnak, külön kiemelve Dr. Sántha Petrát, Dr. Walter Fruzsínát, Dr. Kiss Lórándot, Dr. Bocsik Alexandrát, Dr. Mészáros Máriát, Dr. Porkoláb Gergőt, Dr. Gróf Ilonát, Dr. Barna Lillát, Dr. Harazin Andrást, Dr. Hoyk Zsófiát és Vigh Juditot.

Szeretném megköszönni a mindennapi közös és motiváló munkát jelenlegi diákjaimnak is különös tekintettel Szecskó Anikónak, valamint Cser Nárcisznak, Párdi Koppánynak, Cui Zuhaonak, Páli Emese Kincsőnek és Fodor Virágnak.

Köszönöm Dr. Ormos Pál és Dr. Nagy Ferenc akadémikusoknak, a Szegedi Biológiai Kutatóközpont volt és jelenlegi főigazgatóinak, valamint Dr. Párducz Árpád és Dr. Siklós László, tudományos tanácsadóknak, a Molekuláris Neurobiológiai Laboratórium korábbi vezetőinek és Dr. Zimányi Lászlónak a Biofizikai Intézet korábbi igazgatójának a támogatását.

Köszönöm a Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biofizikai Intézetéből kollégáimnak a szakmai támogatását, külön kiemelve a néhai Dr. Rákhely Gábort, valamint Dr. Tóth Andrást, Dr. Farkas Attilát, Dr. Kóta Zoltánt, Dr. Fekete Tamást, Dr. Kelemen Lórándot, Dr. Végh Attila Gergelyt, Dr. Dér Andrást, Dr. Nagy Krisztinát, és Polgár Tamást. Az SZBK kutatói közül köszönöm Dr. Tóth Melinda, Dr. Lénárt Nikolett, Dr. Pilbat Ana Mária és Dr. Ferencz Györgyi segítségét.

Hazai és külföldi együttműködő partnereink közül hálával tartozom Prof. Daniela Virgintinonak, az olaszországi Bari Egyetemről, Dr. Petra Hülpérnek a Göttingeni Egyetemről, Dr. Kittel Ágnesnek a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetéből; Dr. Vastag Mónikának és Dr. Hellinger Évának a Richter Gedeon NyRT részéről, Dr. Penke Botondnak, Dr. Szabó-Révész Piroskának, Dr. Katona Gábornak a Szegedi Tudományegyetemről, Dr. András Ibolyának a Miami Egyetemről, Dr. Gizem Rüya Topalnak az Ankarai Egyetemről és Dr. Antonio Zandonának Zágrábból a közös kutatómunkánk során nyújtott támogatásáért. Köszönöm Prof. Jeng-Shiung Jannak (National Cheng Kung University, Tajvan), Prof. Jens Schwambornnak (University of Luxembourg, Luxemburg), Prof. Fabien Gosseletnek (Université d'Artois, Franciaország), a kutatómunkánkhoz nyújtott szakmai segítségét és együttműködését.

Köszönettel tartozom a pályázati támogatásokért a Magyar Tudományos Akadémiának, amely a Prémium Posztdoktori Kutatói Támogatással, a két Bolyai János Kutatási Ösztöndíjjal és a gyermeket nevelő kutatókat támogató KGYNK-ösztöndíjjal végig kísérte szakmai karrieremet és segítette munkámat, valamint köszönöm a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak is a támogatását a posztdoktori és a fiatal kutatói OTKA pályázatok által. Nagyon köszönöm a támogatását a Nemzeti Tudós Akadémiának is, akikkel a megalakulásuk óta együtt dolgozom.

Végezetül hálával és köszönettel tartozom férjemnek Lórándnak és gyermekeinknek, Zalánnak és Rozinának, akik szeretetükkel biztos családi háttérrel nyújtottak a dolgos mindennapok nehézségei mellett.