

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**NEUROGÉN TÉNYEZŐK SZEREPE A BŐR, ÍZÜLETEK ÉS
VASTAGBÉL GYULLADÁSOS BETEGSÉGEIBEN**

Dr. Pozsgai Gábor

Elméleti Orvostudományok - Neurofarmakológia Program

Programvezető: Dr. Szolcsányi János, akadémikus

Témavezető: Dr. Pintér Erika, egyetemi docens

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs

2007

Bevezetés

Kapszaicin érzékeny afferens nociceptív neuronok. Az afferens nociceptív neuronok potenciálisan káros ingerekről tájékoztatják a központi idegrendszert.

Régóta ismert, hogy a bőrt, nyálkahártyákat és zsigereket ellátó érző rostok perifériás csomókjainak ingerlése értágulatot és plazmaextravazációt okoz (Bayliss, 1923; Langley, 1923; Lundberg et al., 1984; Szolcsányi, 1984). Ez a jelenség a neurogén gyulladás (Jancsó et al., 1967; Jancsó et al., 1968). A fájdalomérző idegeknek a gyulladásos válaszban résztvevő csoportját szelektíven izgatja, nagy dózisban pedig deszenzibilizálja a kapszaicin. Ezeket az idegsejteket emiatt „kapszaicin érzékeny afferenseknek” nevezzük (Szolcsányi, 1982; Szolcsányi, 1996). A neurogén gyulladást a kapszaicin érzékeny idegrostokból felszabaduló szenzoros neuropeptidok közvetítik. Ugyanezekből az idegvégződésekből gyulladásgátló hatású neuropeptidok (szomatosztatin, galanin, PACAP-38) is felszabadulnak.

A neurogén gyulladás számos betegség kialakulásában szerepet játszik: pl. Asthma bronchiale (Bertrand et al., 1993; Germonpré et al., 1997), allergiás rhinitis (Bertrand et al., 1993; Quartara & Maggi, 1998), conjunctivitis és dermatitis (Gutwald et al., 1991), ekzema (Naukkarinen et al., 1996), rheumatoid arthritis (Levine et al., 1985), migrén (Buzzi & Moskowitz, 1990; Williamson & Hargreaves, 2001) és gyulladásos bélbetegségek (Renzi et al., 2000). Mindezen kórállapotok neurogén összetevőire a hagyományos nem szteroid gyulladáscsökkentők hatástalanok (Jancsó-Gábor & Szolcsányi, 1972; Helyes et al., 2001).

TRPV1 kapszaicin receptor. Néhány éve megtörtént a kapszaicin receptorának klónozása (Caterina et al., 1997; Caterina & Julius, 2001; Clapham et al., 2003). Tranziens receptorpotenciál vanilloid 1 (TRPV1) névre keresztelték, mivel homológiát mutat más tranziens receptorpotenciál (TRP) családba sorolt ioncsatornákkal (Gunthorpe et al., 2002).

A TRPV1 receptor tulajdonképpen nem szelektív kationcsatorna, amit fájdalmas hőingerek (43 °C felett), savas pH (Tominaga et al., 1998), exogén vegyületek (kapszaicin, reziniferatoxin, piperin, zingeron, gingerol, etanol) (Szolcsányi, 1983; Szállási & Blumberg, 1989; Patacchini et al., 1990; Szállási & Blumberg, 1990; Caterina et al., 1997; Liu et al., 2000; Dedov et al., 2002) és endogén anyagok (anandamid, lipoxigenáz termékek, N-oleoil-dopamin) (Hwang et al., 2000; Trevisani et al., 2002; Chu et al., 2003) aktiválnak.

Gyulladáskeltő szenzoros neuropeptidok. A gyulladáskeltő szenzoros neuropeptidok főbb képviselői a tachikininek (P anyag, neurokinin A, neurokinin B) és a CGRP.

A tachikininek legfontosab forrásai a kapszaicin érzékeny idegsejtek, de nem idegi struktúrákban is megtalálhatók. A tachikininek G fehérjéhez kötött receptorokon keresztül fejtik ki hatásukat (NK1, 2, 3). A SP, NKA és NKB az NK1, 2 és 3 receptorok teljes agonistái. A SP legnagyobb affinitással az NK1, a NKA az NK2, a NKB pedig az NK3 receptorhoz kötődik.

A gerincvelő hátsó gyökerében felszabaduló tachikininek szerepet játszanak a fájdalom érzékelésében. A kolinerg és adrenerg ingerületátvitelt is befolyásolják (Grant, 2002). Endotélfüggő értágulatot okoznak. Segítik az endoteliális sejtek szaporodását és vándorlását, valamint az érújdonképződést (Maggi, 1995). A tachikininek plazmafehérje kiáramlást idéznek elő. Egyéb anyagok felszabadítása és hízósejtdegranuláció révén simaizomösszehúzódnás következhet be. Ugyanakkor közvetlenül is kiválthatnak simaizomösszehúzódnást. A SP fokozza a nyálmirigy, gasztrointesztinális mirigyek és a hasnyálmirigy elválasztását (Lembeck & Starke, 1968; Konturek et al., 1981).

A CGRP a calcitonin/CGRP peptidcsalád tagja. Hatását G fehérjéhez kötött receptorokon keresztül fejt ki. Leginkább extraneurális hatásokkal rendelkezik. Tengerimalac ileum mienterikus plexusából fokozza az acetilkolin, de gátolja a noradrenalin és ATP felszabadulását. Intravénásan alkalmazva hipotenziót, tachikardiát, fokozott koronária és mezenterialis vérátáramlást okoz értágító hatása miatt. A CGRP értágító hatása független az endotélsejtektől. Számos szerv simaizomzatát relaxálja (Maggi, 1995). A szívre pozitív kronotrop és inotrop hatást fejt ki (Tippins et al., 1984). Elősegíti a neutrofil sejteknek az erek endotéljéhez való kapcsolódását (Hartung & Toyka, 1989). A CGRP gátolja a pre-B limfociták érését, ellenanyagtermelését, valamint a T limfociták szaporodását. Ugyancsak gátolja gyulladáskeltő citokinek (IL-1, IL-12) felszabadulását makrofágokból, de serkenti a gyulladásgátló hatású IL-10 termelését. Mindezek alapján főként limfociták és makrofágok okozta kórképekben a CGRP gyulladásgátló hatása lehet.

PACAP-38 és kapszaicin érzékeny afferens idegsejtek. A PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide) a VIP (vasoactive intestinal peptide)/szekretin/glükagon peptidcsalád tagja. Két kötőhelyét azonosították különböző szövetekben. Az I-es típusú kötőhelyek a PAC1 receptoroknak felelnek meg. Ezek specifikusak PACAP-ra (Pisegna & Wank, 1993). A II-es típusú kötőhelyek a VPAC1 és 2 receptorok megfelelői, amikhez PACAP és VIP is kapcsolódhat (Ishihara et al., 1992; Vaudry et al., 2000). A PACAP receptorai G fehérjéhez kötöttek. A PAC1 receptor főként az agyban fordul elő. A VPAC1 receptor mRNS-ét kimutatták az agykéregben és a hippocampusban. A VPAC2 receptor mRNS-ét a talamuszban, a nucleus suprachiasmaticusban, az amigdala központi magjában és a hídban azonosították (Usdin et al., 1994; Sheward et al., 1995). A különböző PACAP receptorok mRNS-ét a legtöbb endokrin szervben megtalálták (Usdin et al., 1994; René et al., 1996). A tápcsatornában és annak mirigyeiben, a légzőszervekben, a

kardiovaszkuláris rendszerben, a vesében, a fehér zsírszövetben és a harántcsíktolt izmokban is megtalálhatók (Ishihara et al., 1992; Usdin et al., 1994; Wei & Mojsov, 1996; Wong et al., 1998). A makrofágok és limfociták ugyancsak kifejeznek PACAP receptorokat (Delgado et al., 1996; Johnson et al., 1996).

A PACAP előfordul a központi és perifériás idegrendszerben, az endokrin mirigyekben, valamint a keringési-, légző- és emésztőszervekben. Hatásai a központi és környéki idegrendszerben, perifériás szövetekben szerteágazók (Somogyvári-Vigh & Reglődi, 2004; Zhou et al., 2002).

A PACAP-38 és a CGRP együttes előfordulását igazolták érzőganglionokban, belső szervek ideghálózataiban (Skakkebaek et al., 1999; Hannibal & Fahrenkrug, 2000), a tobozmirigyben (Moller et al., 1999), bőrben és fogakban (Ichikawa & Sugimoto, 2003). A SP-vel is leírták együttes előfordulást (Strange-Vognsen et al., 1997; Mirabella et al., 2001).

Célkitűzések

1. Tisztázni, hogy a PACAP-38 felszabadulhat-e kapszaicin érzékeny idegvégződésekből elektromos és kémiai ingerek hatására *in vitro* körülmények között.
2. Megvizsgálni, hogy a PACAP-38 felszabadulhat-e kapszaicin érzékeny idegsejtekből *in vivo* és bekerülhet-e a szisztémás keringésbe.
3. Tanulmányozni a szisztémásan alkalmazott PACAP-38 hatását különböző gyulladásozó állatmodellekben (mind neurogén, mind kevert típusú gyulladások).
4. Megfigyelni a kapszaicin érzékeny neuronok és TRPV1 receptorok szerepét a PMA által kiváltott fülgyulladás érzékenyítő hatásában.
5. Értékelni a prosztanoidok és IL-1 β hozzájárulását a PMA által kiváltott fülgyulladás érzékenyítő hatásához.
6. Meghatározni a kapszaicin érzékeny idegek és TRPV1 receptorok funkcióját DSS által kiváltott bélgyulladásban.

A PACAP-38 hatása a szenzoros neuropeptidek felszabadulására, valamint akut neurogén és nem neurogén gyulladásozó folyamatokra patkányban és egérben

Számos tanulmány rámutat a PACAP gyulladásozó hatására (Abad et al., 2001; Gomariz et al., 2006). Ugyanakkor keveset tudunk a gyulladás neurogén összetevőire kifejtett hatásáról. Az immunrendszerben a PACAP két helyről származhat: a limfoid szöveteket ellátó idegsejtekből és magukból az immunsejtekből. A PACAP legfontosabb gyulladásozó hatása, hogy csökkenti a makrofágok aktivitását (Delgado et al., 1999).

Módszerek

Izolált patkány tracheából kapszaicin, illetve elektromos ingerlés által kiváltott szenzoros neuropeptid felszabadulás mérése. Altatott patkányok légcsövét eltávolítottuk, szervfürdőbe helyeztük (1,8 ml) és pH 7,2-es, oxigenált, 37 °C-os Krebs-oldattal átáramoltattuk (1 ml/min) 60 percig. Ingerlés előtti, alatti és utáni mintákat vettünk 8 perces eltéréssel. Elektromos téringerlést (EFS; 40 V, 0,1 ms, 10 Hz, 120 másodpercig, 1200 impulzus) végeztünk, vagy kapszaicint (10^{-6} M) adtunk az oldathoz. Egyes kísérletekben PACAP-38-at adtunk az oldathoz, hogy megvizsgálhassuk hatását a szenzoros neuropeptidok felszabadulására.

Az inkubáló oldat PACAP-38, CGRP, P anyag és szomatosztatin tartalmát radioimmunoassay (RIA) eljárással határoztuk meg. Jelölt anyagnak mono- ^{125}I jelzett peptideket alkalmaztunk. Szintetikus peptideket használtunk standardnak. A mérést 1 ml 0,05 mol/l-es, pH 7,4-es, 0,1 mol/l nátrium kloridot, 0,25% BSA-t és 0,05% nátrium azidot tartalmazó oldatban végeztük. Az antiszérumot (100 μl , 1:10000), a jelölt peptidet (100 μl , 5000 cpm/cső) és a standardot, vagy mintát (100 μl) mérőpufferbe pipettáztuk. Inkubáció után (48-72 h, 4 °C) az antitesthez kötött peptidet izoláltuk és a radioaktivitást megmértük.

PACAP-38 kimutatása plazmából tömegspektrometriával. A PACAP-38 kimutatását plazmából standardhoz viszonyítva MALDI TOF (matrix-assisted laser desorption ionization time of flight) tömegspektrometriával végeztük. PACAP-38 standard és patkány szérum 1-1 μl -ét azonos térfogatú telített mátrixoldattal kevertük össze. A gyorsítást késleltetett extrakciós körülmények között (200 ns) pozitív ion üzemmódban 20 kV feszültséggel végeztük.

A kapszaicin érzékeny idegsejtek szisztémás ingerlése *in vivo* körülmények között. Altatott patkányok farokvénájába reziniferatoxint (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.) adtunk. Az RTX injekció után 5 perccel vérmintát vettünk az állatokból szívpunkciós módszerrel.

A nervus ischiadicus antidromos ingerlése. Altatott patkányok nervus ischiadicusát átvágtuk és a perifériás csomókat elektromosan ingereltük (20 V, 0,5 ms, 5 Hz, 5 min) (Szolesányi et al., 1998b). Egy órával az ingerlés előtt guanetidint (8 mg/kg, i.p.) adtunk. Az állatok pipekuroniumot (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.) kaptak és pozitív nyomással lélegeztettük őket. Öt perccel az ingerlés után vérmintát vettünk szívpunkciós eljárással.

A plazmaminták előkészítése radioimmunoassay méréshez. A vérmintákhoz (6 ml állatonként) EDTA-t (12 mg) és aprotinint (1200 U) adtunk. Centrifugálást (2000 rpm, 10 min, 4 °C) követően 3 térfogatnyi abszolút alkohollal kicsaptuk a peptideket. Második centrifugálás után a mintákat áramló nitrogéngáz alatt beszárítottuk, majd 300 μl mérőpufferben reszuszpendáltuk (Jakab et al., 2004).

Mustárolajjal kiváltott fülduzzadás mérése egérben. A fülduzzadást paraffinolajban oldott 1%-os mustárolajjal idéztük elő, amiből 10-10 µl-t kentünk a az állatok fülének belső és külső felszínére a kísérlet kezdetekor és egy órával később. A fülvastagságot mikrométerrel határoztuk meg 0,01 mm-es pontossággal. Mindkét mustárolaj kezelés előtt 15 perccel az állatok PACAP-38-at kaptak (10, 100 és 1000 µg/kg 200 µl fiziológiás sóoldatban, i.p.).

Mustárolajjal kiváltott akut neurogén gyulladás mérése patkány hátsó lábának bőrén. Altatott hím Wistar patkányok mindkét hátsó lábát akutan denerváltuk. Az akut neurogén gyulladást 1%-os paraffinolajban oldott mustárolajjal hoztuk létre. A plazmafehérje kiáramlást Evans-kék módszerrel mértük. Húsz perccel a mustárolaj kezelés után az állatokat kivéztettük. A gyulladás kezdete előtt 20 perccel a patkányok PACAP-38-at (100 µg/kg, i.p.) kaptak.

TRPV1 receptor agonistákkal előidézett akut neurogén gyulladás mérése patkány hátsó lábának talpbőrén. Altatott patkányok mindkét hátsó lábát akutan denerváltuk. Az akut neurogén gyulladást a bal hátsó lábón intraplantárisan alkalmazott RTX-szel (100 µl, 0,1 µg/ml), vagy kapszaicinnel (100 µl, 100 µg/ml) hoztuk létre. A plazmafehérje kiáramlást Evans-kék módszerrel mértük. Az RTX, vagy kapszaicin beadása után 20 perccel kivéztettük a patkányokat. A gyulladás kezdete előtt 10 perccel az állatok PACAP-38-at (10 µg/kg), vagy fiziológiás sóoldatot kaptak i.p.

Karrageeninnel kiváltott ödéma mérése patkány hátsó lábán. Altatott patkányok bal hátsó lábába karrageenint (50 µl, 3%) adtunk intraplantárisan. A karrageenin beadása előtt, majd 60, 120 és 180 perccel utána pletizmometriával meghatároztuk a lábak térfogatát (Helyes et al., 2006). Egy állatcsoport 10 perccel a gyulladás kezdete előtt i.p. 10 µg/kg PACAP-38-at kapott (Helyes et al., 2001; Helyes et al., 2006).

Eredmények

Az izolált patkány légső érző idegvégződéseiből ingerlés hatására PACAP-38 szabadul fel. Kapszaicin (10^{-6} M) 27%-kal, elektromos téringerlés pedig több mint kétszeresére fokozta a PACAP-38 felszabadulását.

PACAP-38 kimutatható a plazmában tömegspektrometriával, PACAP-27 azonban nem. A PACAP-38 azonosítható volt kezeletlen patkányok plazmájában a 4558,7 Da-os jelnél tömegspektrometriával, ami a PACAP-38 Na⁺ kvázimolekuláris ionnak felel meg (MW: 4558,7). PACAP-27-et (MW: 3147,6), vagy hasonló ionját [M+Na] nem sikerült kimutatni.

A patkány plazma PACAP-szerű immunreaktivitása a kapszaicin érzékeny idegek szisztémás ingerlésének hatására emelkedik. A kapszaicin érzékeny idegek ingerlése RTX injekcióval (3 µg/kg, i.v.) kétszeresére emelte a plazma PACAP-szerű immunreaktivitását (PACAP-LI). Az

ülőideg antidromos elektromos ingerlése csak kismértékben fokozta a PACAP-szerű immunreaktivitást.

A PACAP-38 gátolja az izolált patkány tracheából kapszaicinnel és EFS-sel kiváltott P anyag, CGRP és szomatosztatin felszabadulást. Kapszaicin (10^{-6} M) 2,5, 11 és 3-szoros emelkedést okozott a P anyag, CGRP és szomatosztatin felszabadulásában. EFS (1200 impulzus) 3, 3,5 és 2,5-szeres emelkedést idézett elő ezen peptidek kiáramlásában. PACAP-38 (20-2000 nM) szignifikánsan és koncentrációfüggően gátolta a szenzoros neuropeptid felszabadulást mindkét esetben.

PACAP-38 hatása az egérfül akut neurogén ödémájára. PACAP-38 (10, 100 és 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) szignifikánsan és dóziszfüggően csökkentette a mustárolaj által kiváltott fülödémát.

PACAP-38 hatása akut neurogén gyulladásra patkány hátsó lábának bőrén. PACAP-38 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p.) szignifikánsan, 37,8%-kal gátolta a mustárolaj okozta Evans-kék akkumulációt patkány akutan denervált hátsó lábának bőrén.

A PACAP-38 csökkenti a kapszaicinnel és reziniferatoxinnal kiváltott akut neurogén gyulladást patkány hátsó lábának talpbőrén. PACAP-38 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p.) 10 perccel a gyulladáskeltő RTX (0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 μl , intraplantarisan), vagy kapszaicin (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 μl , intraplantarisan) előtt alkalmazva 45,7%, illetve 46,4%-os gátlást okozott.

PACAP-38 hatása karrageeninnel kiváltott akut lábödémára patkányban. PACAP-38 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p.) szignifikánsan csökkentette a karrageeninnel kiváltott ödémát.

Összefoglalás

Igazoltuk, hogy a PACAP-38 felszabadul az ingerelt kapszaicin érzékeny idegvégződésekből. Ezenkívül ismertettünk egy specifikus és érzékeny radioimmunoassay eljárást a PACAP-LI-nek plazmából történő megbízható kimutatására. Ezen módszer segítségével bizonyítottuk, hogy a kapszaicin érzékeny idegekből TRPV1 receptoron keresztül felszabaduló PACAP-38 bekerül a szisztémás keringésbe. Azt találtuk, hogy a PACAP-38 képes gátolni a szenzoros neuropeptid felszabadulását az érzőrostokból. Ugyanezzel a hatásmechanizmussal szisztémásan alkalmazva hatékonyan csökkenti a neurogén gyulladást *in vivo*. A szisztémásan alkalmazott PACAP-38 a kevert típusú ödémaképződést is mérsékelte patkány hátsó lábában.

Nem neurogén gyulladásnak kapszaicin érzékeny idegekre kifejtett szisztémás érzékenyítő hatása egérfülben

A forbol 12-mirisztát 13-acetát (PMA) kiváltotta egérfül gyulladást régóta használják különböző anyagok gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálatára (Garrido et al., 2004; Huang et al., 2006). Vanilloid vegyületekkel kezelt állatok segítségével neurogén összetevőket igazoltak a PMA okozta egérfül gyulladásban.

Vizsgálatunk célja a kapszaicin érzékeny idegvégződések és TRPV1 receptorok szerepének tisztázása a PMA okozta egérfül gyulladás idegrostokra kifejtett érzékenyítő hatásában.

Módszerek

PMA és acetón kezelés. Altatott állatok jobb fülét acetónban oldott PMA-val (2,5 µg) kentük be. A bal füleket acetonnal kezeltük. Külön állatcsoportok mindkét fülét acetonnal kentük be, illetve a jobb fület PMA-val kezeltük, a bal fül pedig érintetlen maradt.

Szisztémás reziniferatoxin előkezelés. Az RTX törzsoldatot (1 mg/ml) 96%-os etanollal készítettük, a további hígításokat fiziológiás sóoldattal végeztük. Altatott TRPV1^{+/+} állatok nyakába 10, 30 és 100 µg/kg RTX oldatot adtunk s.c. három egymást követő napon. Az egereket 14 nappal a kezelés után vontuk be kísérletbe. A kezelés sikerességét szemtörlési teszttel ellenőriztük.

Lokális kapszaicin kezelés. TRPV1^{+/+} állatok jobb, vagy bal fülét 70%-os etanolban oldott 0,5%-os kapszaicinnel kentük be. Az ellenoldali füleket etanollal kezeltük. A kapszaicin kezelést kétóránként végeztük ötször, két egymást követő napon. Az állatokat 4 nappal a kezelés után használtuk kísérlethez (Gábor & Rázga, 1992).

Ibuprofen kezelés. Vad típusú állatok egy csoportja 45 perccel a PMA és acetón kezelés előtt, illetve 6 és 12 órával utána 70 mg/kg fiziológiás sóban oldott ibuprofent kapott.

Anti-IL-1β antitest kezelés. Egy egércsoport 5 µg poliklonális kecske anti egér IL-1β IgG-t kapott i.v. Az állatok egy órával az injekció után részesültek PMA és acetón kezelésben, fülvastagságukat pedig az alább leírtaknak megfelelően mértük.

A fülödéma mérése. A fülvastagságot az acetonnal, illetve PMA-val történő kezelés előtt és adott időpontokban a kezelés után határoztuk meg mikrométerrel.

Mieloperoxidáz aktivitás mérése. A mintákat 12 órával az acetón és PMA kezelés után vettük, majd a mérésig -20 °C-on tároltuk. A füleket megmértük, felaprítottuk és homogenizáltuk. A homogenizátumot lecentrifugáltuk (10000 g, 4 °C, 10 perc) és 500 µl mintát gyűjtöttünk a

felülúszóból. A mieloperoxidáz aktivitást 96 lyukú lemezen 3, 3', 5, 5'-tetrametil-benzidin segítségével határoztuk meg szobahőmérsékleten.

Szövettan. Pontoztuk az ödéma mértékét, a szórtüszők és faggyúmirigyek nekrozisakor kialakuló mikroabszcesszusok, valamint az akkumulálódott fehérvérsejtek számát.

Az IL-1 β koncentrációjának mérése. A mintákat megmértük, majd fenilmetilszulfonil fluoridot tartalmazó RPMI oldatba (1 ml) tettük és feldaraboltuk. A füleket homogenizáltuk, lecentrifugáltuk (10000 g, 4 °C, 10 perc) és 500 μ l mintát gyűjtöttünk a felülúszóból. A minták IL-1 β tartalmát BD OptEIA ELISA set segítségével határoztuk meg.

Eredmények

A TRPV1 receptorgén hiányának, szisztémás RTX előkezelésnek, lokális kapszaicin deszenzibilizációnak, valamint ibuprofen kezelésnek a PMA és acetonnal okozta fülödémára kifejtett hatása. Amennyiben a jobb fület PMA-val kezeltük, az acetonnal kezelésben részesült bal fül vastagsága 85%-kal növekedett 12 óra alatt TRPV1+/+ és -/- állatokban egyaránt. Az első 4 órában az acetonnal kezelt fülek nem vastagodtak meg. A PMA kezelés a jobb fülön 163-196% fülvastagodást idézett elő TRPV1+/+ és TRPV1-/- egerekben is.

TRPV1+/+ állatok reziniferatoxinnal történő szisztémás előkezelése csökkenti az acetonnal kiváltotta fülödémát a bal oldalon. Az előkezelés 30-50%-kal gátolta a jobb oldali PMA okozta fülvastagodást főként az első 6 órában.

Ha mindkét fület acetonnal kezeltük, csak 12-20%-os vastagodást tapasztaltunk. Ha a bal fület érintetlenül hagytuk, az ellenoldali PMA kezelés 30%-os fülvastagodást eredményezett a kezeletlen bal oldalon TRPV1 KO és vad típusú egerekben is.

A kétoldali acetonnal kezelés okozta fülödémát sem a TRPV1 receptorgén hiánya, sem a szisztémás RTX előkezelés nem befolyásolta szignifikánsan.

Egy külön állatcsoportban TRPV1+/+ egerek acetonnal kezelt bal fülén helyi kapszaicin deszenzibilizálást végeztünk. Ekkor az acetonnal kezelés csak kismértékű vastagodáshoz vezetett. Ha a lokális előkezelést a jobb, PMA-val kezelt fülön végeztük, a PMA kiváltotta fülödéma a korai időszakban csökkent. Az ellenoldali, nem előkezelt fülön az acetonnal hatására továbbra is 74-91%-os vastagodás jelentkezett.

TRPV1+/+ állatokban az ibuprofen kezelés (70 mg/kg) teljesen kivédte a baloldali, acetonnal okozta fülvastagodást. Az ibuprofen kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a jobb fül PMA kiváltotta ödémáját.

A TRPV1 receptorgén hiány és RTX előkezelés hatása a fülminták mieloperoxidáz aktivitására. A bal oldali aceton kezelés kismértékű, de szignifikáns mieloperoxidáz aktivitás emelkedést idézett elő TRPV1 KO egerekben.

Nagymértékű mieloperoxidáz aktivitás fokozódást tapasztaltunk a PMA-val kezelt jobb fülekben 12 órával a kezelés után. Ezt sem a szisztémás RTX előkezelés, sem a TRPV1 receptor genetikai hiánya nem befolyásolta.

Szövetteni eredmények. A TRPV1 KO állatok füleiben találtuk a legnagyobb számú mikroabszcesszust. Ezekben az állatokban a bal oldali aceton kezelés is okozott enyhe mikroabszcesszus képződést. A jobb fülek PMA kezelése nagyfokú mono- és polimorfonukleáris sejt akkumulációját idézte elő TRPV1^{+/+}, TRPV1^{-/-} és RTX előkezelt vad típusú egerekben. A kétoldali aceton kezelés nem vezetett szignifikáns sejtgyülem kialakulásához.

A PMA és aceton kezelés hatása az egérfül IL-1 β tartalmára. A PMA kezelt állatok bal oldali, acetonnal kezelt fülében emelkedett IL-1 β szintet mértünk. A kétoldali aceton kezelés sem TRPV1^{+/+} sem TRPV1^{-/-} állatokban nem okozott emelkedett IL-1 β szintet. A jobb oldali PMA kezelés megemelte a fülek IL-1 β tartalmát TRPV1^{+/+} és TRPV1^{-/-} egerekben is.

Szisztémás anti-IL-1 β antitest kezelés hatása a PMA és aceton okozta fülödémára. Az anti-IL-1 β antitesttel való előkezelés nem csökkentette a PMA kezelés érzékenyítő hatását az ellenoldali aceton kiváltotta fülvastagodásra. Az előkezelés a PMA okozta fülödémát sem gátolta a jobb oldalon.

Összefoglalás

Igazoltuk a PMA érzékenyítő hatását az ellenoldali aceton okozta fülödémára, valamint bemutattuk, hogy a prosztanoid vegyületek fontos szerepet játszanak ebben a folyamatban. Eredményeink alapján az IL-1 β nem vesz részt az érzékenyítésben. Adataink szerint a potenciáló hatás az acetonnal kezelt fül kapszaicin érzékeny idegvégződéseinek keresztül érvényesül, de a TRPV1 receptortól függetlenül.

Továbbá bizonyítékot szolgáltatunk arra, hogy a PMA okozta fülgyulladás neurogén összetevője független a TRPV1 receptortól és nem IL-1 β közvetíti.

Rámutatunk, hogy önkontrollos *in vivo* gyulladáshoz vezető kísérletekben az aceton nem használható a PMA inert oldószereként. Munkánk a helyi sejtes gyulladáshoz vezető folyamatok során felszabaduló mediátoroknak arra a tulajdonságára hívja fel a figyelmet, hogy azok a test távoli részében a neurogén gyulladást fokozhatják.

A kapszaicin érzékeny afferens idegvégződések szerepe a dextrán szulfát okozta vastagbélgyulladásban

A kapszaicin érzékeny idegvégződések és a TRPV1 receptor szerepét gyulladásos bélbetegségekben régóta vizsgálják. A colitis ulcerosa és a Crohn-betegség legelterjedtebb állatmodelljei a dextrán szulfát nátrium (DSS) és helyileg alkalmazott trinitrobenzol szulfonsav (TNBS) okozta vastagbélgyulladás (Okayasu et al., 1990; Morris et al., 1989).

TNBS-szel együtt alkalmazott helyi kapszaicin kezelés (640 $\mu\text{mol/l}$) gátolta a TNBS okozta gyulladást patkányban (Goso et al., 1993), ezzel alátámasztotta a felaszabadított neuropeptidok gyulladáscsökkentő hatását. Per os adagolt kapszaicin az orális dextrán szulfát által kiváltott bélgyulladást is csökkentette patkányban (Okayama et al., 2004). Néhány közlemény szerint TRPV1 antagonisták védő hatással rendelkeznek TNBS-szel és dextrán szulfáttal kiváltott vastagbélgyulladás esetén rágcsálókban (Kihara et al., 2003; Fujino et al., 2004; Kimball et al., 2004). Az érző idegvégződések deszenzibilizálása kapszaicin előkezeléssel fokozta a gyulladásos elváltozásokat TNBS-szel, DSS-tal kiváltott és egyéb bélgyulladás modellekben (Barada et al., 2001; Okayama et al., 2004). Arra vonatkozóan is születtek adatok, hogy újszülöttkori kapszaicin deszenzibilizálás enyhíti a DSS okozta bélgyulladást patkányban (Kihara et al., 2003).

Mivel a kapszaicin érzékeny idegvégződéseknek, különösen pedig a TRPV1 receptornak a gyulladásos bélbetegségekben betöltött szerepére vonatkozó kísérleti eredmények ellentmondásosak, jelen vizsgálatunkban a szenzoros neurogén összetevők részvételét a DSS okozta bélgyulladásban TRPV1 receptorgén hiányos állatok és szisztémás RTX előkezelés segítségével tanulmányoztuk.

Módszerek

A vastagbélgyulladás létrehozása. Az egerknek szabad hozzáférést biztosítottunk bidesztillált vízben oldott DSS-hez (2%) 5, vagy 6 napig. A kontroll állatok bidesztillált vizet kaptak. Az állatok súlyát naponta lemértük, székletük konzisztenciáját, vértartalmát pontoztuk. Hat nap után az állatokat éterrel elkábítottuk és dekapitáció segítségével leöltük. A vastagbelüket eltávolítottuk, majd a széklet eltávolítása érdekében Krebs-Henseleit oldattal óvatosan átöblítettük. A bélmintákat három egyenlő részre osztottuk (proximális, középső és disztális). Mindhárom szakaszból 4 mm széles gyűrűket vágunk szövettani vizsgálatra.

Szisztémás reziniferatoxin előkezelés. A szisztémás RTX előkezelést a korábban leírtaknak megfelelően végeztük és ellenőriztük.

A betegség súlyosságát jellemző klinikai pontszám (Disease Activity Index). A testsúlyvesztés, széklet halmazállapotot és vértartalmat naponta pontoztuk (Stevceva et al., 2001). Mindhárom jellemzőt 0-tól 4-ig terjedő skálán jellemeztük. A klinikai pontszám a súlyvesztés, széklet halmazállapot és széklet vértartalom pontszámok számtani átlaga. A DSS kezelésben részesült TRPV1+/+, TRPV1-/- és TRPV1+/+ RTX előkezelt állatok esetében túlélési statisztikát is készítettünk.

Mieloperoxidáz aktivitás mérése. A bélminták súlyát megmértük, felaprítottuk őket és 1 ml 50 mM-os 0,5% hexadeciltrimetilammonium bromidot tartalmazó káliumfoszfát pufferben (pH 6) homogenizáltuk. A homogenátumot 10000 g-vel, 4 °C-on, 10 percig centrifugáltuk. A felülúszóból 400 µl-t leszívunk. A mieloperoxidáz aktivitást a korábban leírtaknak megfelelően határoztuk meg.

Szövettan. A nyálkahártyában a kripták magasságát, valamint a gyulladás súlyosságát és kiterjedését pontoztuk (Kihara et al., 2003).

Eredmények

Klinikai pontszám (Disease Activity Index). TRPV1+/+ állatokban a 2%-os DSS kezelés 57,14%-os elhullást eredményezett. A TRPV1 receptor genetikai hiánya nem befolyásolta a klinikai pontszámot. A TRPV1-/- egerek esetében 38,46%-os veszteséget tapasztaltunk 6 nap alatt. Az RTX előkezelt TRPV1+/+ állatoknál különösen nagymértékű elhullás jelentkezett (91,67%). A szisztémás RTX előkezelés nem módosította a klinikai pontszámot. A TRPV1+/+ RTX előkezelt állatok túlélési valószínűsége szignifikánsan kisebb volt, mint a TRPV1+/+ egereké.

A bélminták mieloperoxidáz aktivitása. A DSS kezelés az összes állatcsoportban az MPO aktivitás szignifikáns emelkedéséhez vezetett. A TRPV1 KO állatok több, mint kétszeres MPO aktivitás emelkedést mutattak a középső bélszakaszon a vad törzshöz képest. A kapszaicin érzékeny idegrostok funkciójának RTX előkezeléssel történő blokkolása a középső és disztális bélszakaszokon szignifikánsan magasabb MPO értékeket eredményezett a TRPV1+/+ egerekhez képest.

Szövettan. A dextranszulfát kezelésben részesült állatok összetett szövettani pontszáma minden bélszakaszon és minden állatcsoportban magasabb volt a vízzel kezeltkénel. A TRPV1 receptor genetikai hiánya a középső és disztális bélszakaszon vezetett nagyobb fokú szövettani eltérésekhez. Az RTX előkezelés TRPV1+/+ állatokhoz hasonlítva szignifikánsan nagyobb mértékű gyulladásos folyamatot eredményezett.

Összefoglalás

A colitis ulcerosa állatmodelljei értékes eszközök a betegség patomechanizmusának vizsgálatában. A dextrán szulfát kiváltotta bélgyulladás a colitis ulcerosa jellegzetes tüneteit mutatja: krónikus visszatérő hasmenést, véres székletet, a végbél gyulladását, nyálkahártyájának kifelélyződését, kripta abszcesszusok képződését. A fekélyes területeken fokozott a hámsejtek apoptózisa és nekrozisa (Boismenu et al., 2002; Vetuschi et al., 2002).

A TRPV1 receptornak és a szenzoros neuropeptideknek a DSS okozta vastagbélgyulladásban betöltött szerepéről napvilágot látott adatok ellentmondásosak. Kihara és Kimball szerint a kapszaicin érzékeny idegvégződésekből felszabaduló neuropeptidek összességében gyulladáskeltő hatásúak. Ezel szemben Okayama és munkatársai azt tapasztalták, hogy az orálisan alkalmazott szelektív TRPV1 receptor agonista kapszaicin által felszabadított neuropeptidek gátolták a DSS indukálta bélgyulladást patkányban. Azt is megfigyelték, hogy kapszaicin előkezelés fokozza a gyulladáshoz való választ (Okayama et al., 2004). Eredményeink a szenzoros neuropeptidek gyulladásgátló szerepére utalnak ebben a modellben. Saját eredményeink Okayama közleményét erősítik meg: kísérleteinkben a kapszaicin érzékeny idegvégzések RTX-szel történő deszenzibilizálása, valamint a TRPV1 receptor genetikai hiánya súlyosbította a kórszövettani elváltozásokat és rontotta a túlélés valószínűségét DSS indukálta vastagbélgyulladásban.

A TRPV1 receptor és a kapszaicin érzékeny idegvégzések moduláló hatásának mélyebb megismerése a colitis ulcerosa kezelésében alkalmazható új támadáspontú gyulladáscsökkentő gyógyszerek kifejlesztéséhez nyújthat segítséget.

Új eredmények

1. Eredményeink igazolják, hogy a patkány légcső érző idegeiből kapszaicin, vagy elektromos téringerlés hatására PACAP-38 szabadul fel. PACAP-38 szerű immunreaktivitást mutattunk ki kezeletlen patkányok plazmájában, amit tömegspektrometriával is megerősítettünk. Reziniferatoxin kezelés hatására a plazma PACAP-38 tartalma kétszeresére emelkedett.
2. Kísérleteinkben a PACAP-38 gyulladáscsökkentő hatását tapasztaltuk mind neurogén, mind kevert típusú folyamatokban. A PACAP-38 dózisfüggő módon gátolta a patkány légcsőből kapszaicinnal, vagy elektromos téringerléssel előidézett neuropeptid felszabadulást. Szisztémásan alkalmazott PACAP-38 szignifikánsan gátolta a mustárolaj okozta neurogén egérfül ödémát, patkány hátsó lábán mustárolajjal létrehozott gyulladást és patkány hátsó lábán intraplantárisan beadott reziniferatoxinnal, vagy kapszaicinnal előidézett gyulladást.

- Intravénásan alkalmazott PACAP-38 sikeresen csökkentette patkány hátsó lábán a karrageeninnel kiváltott gyulladást.
3. Megfigyeltük a PMA okozta gyulladás érzékenyítő hatását aceton kiváltotta egérfül ödémára. A kapszaicin érzékeny idegvégződések meghatározó szerepet játszanak az érzékenyítésben, mivel szisztémás reziniferatoxin előkezelés kivédte azt. Genetikailag módosított állatok segítségével bizonyítottuk, hogy a TRPV1 receptor nem lényeges eleme a jelenségnek. Azt találtuk, hogy a prosztanoidok fontos közvetítői az érzékenyítésnek, az IL-1 β viszont nem rendelkezik érdemi hatással.
 4. Vizsgálataink fényt derítettek a PMA okozta gyulladás pathomechanizmusának néhány kevésbé tisztázott részletére. Eredményeink alapján a TRPV1 receptor genetikai hiánya nem befolyásolja az folyamatot. Adataink szerint az IL1- β nem nélkülözhetetlen a PMA okozta fülgyulladás közvetítésében.
 5. Vizsgálataink szerint a kapszaicin érzékeny idegvégződések funkcionális gátlása és a TRPV1 receptor hiánya fokozzák a gyulladással sejtakkumulációt, valamint egyéb szövettani eltéréseket C57BL/6 egerekben DSS-szel létrehozott vastagbélgyulladásban.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Pintér Erikának, a felbecsülhetetlen értékű segítségért, amit tőle kaptam. Köszönöm Prof. Szolcsányi Jánosnak, Neurofarmakológia Ph.D. Program vezetőjének, hogy a képzésben résztvehettem. Köszönetem fejezem ki Helyes Zsuzsannának, Németh Józsefnek, Reglődi Dórának, Sándor Katalinnak, Perkecz Anikónak, Bagoly Teréznek, Börzsei Ritának, Prof. Barthó Lorándnak, Benkó Ritának és Bölcskei Katának a rengeteg elméleti és sokszor gyakorlati segítségért. Köszönöm Zádor Csillának és Zöldhegyi Máriának magasszintű asszisztensi munkájukat.

Irodalom

- Abad C, Martinez C, Leceta J, Gomariz RP, Delgado M. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide inhibits collagen-induced arthritis: an experimental immunomodulatory therapy. *J Immunol* 2001;167:3182-3189.
- Barada KA, Kafrouni MI, Khoury CI, et al. Experimental colitis decreases rat jejunal amino acid absorption: role of capsaicin sensitive primary afferents. *Life Sci* 2001;69:3121-3131.
- Bayliss WM. The Vaso-motor System. London: Longmans Green, 1923.
- Bertrand C, Geppetti P, Baker J, Yamawaki I, Nadel JA. Role of neurogenic inflammation in antigen-induced vascular extravasation in guinea pig trachea. *J Immunol* 1993;150:1479-1485.

- Boismenu R, Chen Y, Chou K, El-Sheikh A, Buelow R. Orally administered RDP58 reduces the severity of dextran sodium sulphate induced colitis. *Ann Rheum Dis* 2002;61(Suppl 2):ii19-24.
- Buzzi MG, Moskowitz MA. The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater. *Br J Pharmacol* 1990;99:202-206.
- Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci* 2001;24:487-517.
- Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997;389:816-824.
- Chu CJ, Huang SM, De Petrocellis L, et al. N-oleoyldopamine, a novel endogenous capsaicin-like lipid that produces hyperalgesia. *J Biol Chem* 2003;278:13633-13639.
- Clapham DE, Montell C, Schultz G, Julius D. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels. *Pharmacol Rev* 2003; 55: 591-596.
- Dedov VN, Tran VH, Duke CC, et al. Gingerols: a novel class of vanilloid receptor (VR1) agonists. *Br. J. Pharmacol.* 2002;137:793-798.
- Delgado M, Garrido E, de la Fuente M, Gomariz RP. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP-38) stimulates rat peritoneal macrophage functions. *Peptides* 1996;17:1097-1105.
- Delgado M, Munoz-Elias EJ, Gomariz RP, Ganea D. VIP and PACAP inhibit IL-12 production in LPS-stimulated macrophages. Subsequent effect on IFN γ synthesis by T cells. *J Neuroimmunol* 1999;96:167-181.
- Fujino K, Takami Y, de la Fuente SG, Ludwig KA, Mantyh CR. Inhibition of the vanilloid receptor subtype-1 attenuates TNBS-colitis. *J Gastrointest Surg* 2004;8:842-848.
- Gábor M, Rázga Z. Development and inhibition of mouse ear oedema induced with capsaicin. *Agents Actions* 1992;36:83-86.
- Garrido G, Gonzalez D, Lemus Y, et al. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG). *Pharmacol Res* 2004;50:143-149.
- Germonpré PR, Joos GF, Mekeirele K, Pauwels RA. Role of the 5-HT receptor in neurogenic inflammation in Fisher 344 rat airways. *Eur J Pharmacol* 1997;324:249-255.
- Gomariz RP, Juarranz Y, Abad C, Arranz A, Leceta J, Martinez C. VIP-PACAP system in immunity: new insights for multitarget therapy. *Ann NY Acad Sci* 2006;1070:51-74.
- Goso C, Evangelista S, Tramontana M, Manzini S, Blumberg PM, Szallasi A. Topical capsaicin administration protects against trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in the rat. *Eur J Pharmacol* 1993;249:185-190.
- Grant A. Leukocytes and neurogenic inflammation. *Inflammopharmacology* 2002;9:403-420.
- Gunthorpe MJ, Benham CD, Randall A, Davis JB. The diversity in the vanilloid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23:183-191.
- Gutwald J, Goebeler M, Sorg C. Neuropeptides enhance irritant and allergic contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 1991;96:695-698.
- Hannibal J, Fahrenkrug J. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in intrinsic and extrinsic nerves of the rat pancreas. *Cell Tissue Res* 2000;299:59-70.
- Hartung HP, Toyka KV. Substance P, the immune system and inflammation. *Int Rev Immunol* 1989;4:229-249.
- Huang MT, Liu Y, Ramji D, et al. Inhibitory effects of black tea theaflavin derivatives on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and arachidonic acid metabolism in mouse ears. *Mol Nutr Food Res* 2006;50:115-122.

- Helyes Z, Pintér E, Németh J, et al. Anti-inflammatory effect of synthetic somatostatin analogues in the rat. *Br J Pharmacol* 2001;134:1571-1579.
- Helyes Z, Pinter E, Nemeth J, et al. Effects of the somatostatin receptor subtype 4 selective agonist J-2156 on sensory neuropeptide release and inflammatory reactions in rodents. *Br J Pharmacol* 2006;149:405-415.
- Hwang SW, Cho H, Kwak J, et al. Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:6155-6160.
- Ichikawa H, Sugimoto T. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-immunoreactive nerve fibers in rat and human tooth pulps. *Brain Res* 2003;980:288-292.
- Ishihara T, Shigemoto R, Mori K, Takahashi K, Nagata S. Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for vasoactive intestinal polypeptide. *Neuron* 1992;8:811-819.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br J Pharmacol Chemoter* 1967;31:138-151.
- Jancsó N, Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. The role of sensory nerve endings in neurogenic inflammation induced in human skin and in the eye and paw of the rat. *Br J Pharmacol Chemoter* 1968;33:32-41.
- Jancsó-Gábor A, Szolcsányi J. Neurogenic inflammatory responses. *J Dent Res* 1972;51:264-269.
- Johnson MC, McCormack RJ, Delgado M, Martinez C, Ganea D. Murine T-lymphocytes express vasoactive intestinal peptide receptor 1 (VIP-R1) mRNA. *J Neuroimmunol* 1996;68:109-119.
- Kihara N, de la Fuente SG, Fujino K, Takahashi T, Pappas TN, Mantyh CR. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats. *Gut* 2003;52:713-719.
- Kimball ES, Wallace NH, Schneider CR, D'Andrea MR, Hornby PJ. Vanilloid receptor 1 antagonists attenuate disease severity in dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *Neurogastroenterol Motil* 2004;16:811-818.
- Konturek SJ, Jaworek J, Tasler J, Cieszkowski M, Pawlik W. Effect of substance P and its C-terminal hexapeptide on gastric and pancreatic secretion in the dog. *Am J Physiol* 1981;241:G74-G81.
- Langley JN. Antidromic action. *J Physiol* 1923;57:428-446.
- Lembek F, Starke K. Substance P and salivary secretion. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 1968;259:375-385.
- Levine JD, Moskowitz MA, Basbaum AI. The contribution of neurogenic inflammation in experimental arthritis. *J Immunol* 1985;135(2 Suppl):843s-847s.
- Liu L, Welch JM, Erickson RP, Reinhart PH, Simon SA. Different responses to repeated applications of zingerone in behavioral studies, recordings from intact and cultured TG neurons, and from VR1 receptors. *Physiol Behav* 2000;69:177-186.
- Lundberg JM, Brodin E, Hua X, Saria A. Vascular permeability changes and smooth muscle contraction in relation to capsaicin-sensitive substance P afferents in the guinea pig. *Acta Physiol Scand* 1984;120:217-227.
- Maggi CA. Tachykinins and calcitonin gene-related peptide (CGRP) as co-transmitters released from peripheral endings of sensory nerves. *Prog Neurobiol* 1995;45:1-98.
- Mirabella N, Squillacioti C, Germano G, Varricchio E, Paino G. Pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) immunoreactivity in the ureter of the duck. *Cell Tissue Res* 2001;305:341-349.
- Moller M, Fahrenkrug J, Hannibal J. Innervation of the rat pineal gland by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)-immunoreactive nerve fibres. *Cell Tissue Res* 1999;296:247-257.
- Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989;96:795-803.

- Naukkarinen A, Jarvikallio A, Lakkakorpi J, Harvima IT, Harvima RJ, Horsmanheimo M. Quantitative histochemical analysis of mast cells and sensory nerves in psoriatic skin. *J Pathol* 1996;180:200-205.
- Okayama M, Tsubouchi R, Kato S, Takeuchi K. Protective effect of lafutidine, a novel histamine H₂-receptor antagonist, on dextran sulfate sodium-induced colonic inflammation through capsaicin-sensitive afferent neurons in rats. *Dig Dis Sci* 2004;49:1696-704.
- Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 1990;98:694-702.
- Patacchini R, Maggi A, Meli A. Capsaicin-like activity of some natural pungent substances on peripheral endings of visceral afferents. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1990;342:72-77.
- Pisegna JR, Wank SA. Molecular cloning and functional expression of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type I receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:6345-6349.
- Quartara L, Maggi CA. The tachykinin NK1 receptor. Part II: Distribution and pathophysiological roles. *Neuropeptides* 1998;32:1-49.
- Rene F, Monnier D, Gaiddon C, Felix JM, Loeffler JP. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide transduces through cAMP/PKA and PKC pathways and stimulates proopiomelanocortin gene transcription in mouse melanotropes. *Neuroendocrinology* 1996;64:2-13.
- Renzi D, Pellegrini B, Tonelli F, Surrenti C, Calabro A. Substance P (neurokinin-1) and neurokinin A (neurokinin-2) receptor gene and protein expression in the healthy and inflamed human intestine. *Am J Pathol* 2000;157:1511-1522.
- Sheward WJ, Lutz EM, Harmar AJ. The distribution of vasoactive intestinal peptide₂ receptor messenger RNA in the rat brain and pituitary gland as assessed by in situ hybridization. *Neuroscience* 1995;67:409-418.
- Skakkebaek M, Hannibal J, Fahrenkrug J. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in the rat mammary gland. *Cell Tissue Res* 1999;298:153-159.
- Somogyvari-Vigh A, Reglodi D. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: a potential neuroprotective peptide. *Curr Pharm Des* 2004;10:2861-2889.
- Stevceva L, Pavli P, Husband A, Ramsay A, Doe WF. Dextran sulphate sodium-induced colitis is ameliorated in interleukin 4 deficient mice. *Genes Immun* 2001;2:309-316.
- Strange-Vognsen HH, Arnbjerg J, Hannibal J. Immunocytochemical demonstration of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in the porcine epiphyseal cartilage canals. *Neuropeptides* 1997;31:137-141.
- Szállási Á, Blumberg PM. Neurogenic component of phorbol ester-induced mouse skin inflammation. *Cancer Res* 1989;49:6052-6057.
- Szállási Á, Blumberg PM. Resiniferatoxin and its analogs provide novel insights into the pharmacology of the vanilloid (capsaicin) receptor. *Life Sci* 1990;47:1399-408.
- Szolcsányi J. Capsaicin type pungent agents producing pyrexia. In: Milton AS, ed. *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin: Springer; 1982: 437-478.
- Szolcsányi J. Tetrodotoxin-resistant non-cholinergic neurogenic contraction evoked by capsaicinoids and piperine on guinea-pig trachea. *Neurosci Lett* 1983;42:83-88.
- Szolcsányi J. Capsaicin-sensitive chemoceptive neural system with dual sensory-efferent function. In: Chahl LA, Szolcsányi J, Lembeck F, eds. *Antidromic Vasodilatation and Neurogenic Inflammation*. Budapest: Akadémiai Kiadó, 1984:27-55.
- Szolcsányi J. Capsaicin-sensitive sensory nerve terminals with local and systemic efferent functions: facts and scopes of an unorthodox neuroregulatory mechanism. *Prog Brain Res* 1996;113:343-359.

- Tippins JR, Morris HR, Panico M, et al. The myotropic and plasma-calcium modulating effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Neuropeptides* 1984;4:425-434.
- Tominaga M, Caterina MJ, Malmberg AB, et al. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 1998;21:531-543.
- Trevisani M, Smart D, Gunthorpe MJ, et al. Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1. *Nat Neurosci* 2002;5:546-551.
- Usdin TB, Bonner TI, Mezey E. Two receptors for vasoactive intestinal polypeptide with similar specificity and complementary distributions. *Endocrinology* 1994;135:2662-2680.
- Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, Yon L, Fournier A, Vaudry H. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. *Pharmacol Rev* 2000;52:269-324.
- Vetuschi A, Latella G, Sferra R, Caprilli R, Gaudio E. Increased proliferation and apoptosis of colonic epithelial cells in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci* 2002;47:1447-1457.
- Wei Y, Mojsos S. Distribution of GLP-1 and PACAP receptors in human tissues. *Acta Physiol Scand* 1996;157:355-357.
- Williamson DJ, Hargreaves RJ. Neurogenic inflammation in the context of migraine. *Microsc Res Tech* 2001;53:167-178.
- Wong AO, Leung MY, Shea WL, Tse LY, Chang JP, Chow BK. Hypophysiotropic action of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in the goldfish: immunohistochemical demonstration of PACAP in the pituitary, PACAP stimulation of growth hormone release from pituitary cells, and molecular cloning of pituitary type I PACAP receptor. *Endocrinology* 1998;139:3465-379.
- Zhou CJ, Shioda S, Yada T, Inagaki N, Pleasure SJ, Kikuyama S. PACAP and its receptors exert pleiotropic effects in the nervous system by activating multiple signaling pathways. *Curr Protein Pept Sci* 2002;3:423-439.

Közlemények

A dolgozat alapját képező közlemények

- Németh J, Reglódi D, Pozsgai G, et al. Effect of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-38 on sensory neuropeptide release and neurogenic inflammation in rats and mice. *Neuroscience* 2006;143:223-230. IF: 3,427
- Helyes Zs, Pozsgai G, Börzsei R, et al. Inhibitory effect of PACAP-38 on acute neurogenic and non-neurogenic inflammatory processes in the rat. *Peptides* 2007;28:1847-1855. IF: 2,701
- Pozsgai G, Sándor K, Perkecz A, et al. Topical acetone treatment induces neurogenic oedema on the sensitized mouse ear: an in vivo study using transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptor knockout mice. *Inflamm Res* 2007;56:459-467. IF: 1,485
- Pozsgai G, Perkecz A, Markovics D, Szolcsányi J, Pintér E. Investigation of the role of transient receptor potential vanilloid 1 receptor in dextran sulphate sodium induced colitis using gene deficient mice. *Neurogastroenterol Motil* 2007 (prepared for submission).

A dolgozathoz kapcsolódó idézhető előadáskivonatok

- Pozsgai G, Sándor K, Perkecz A, Szolcsányi J, Pintér E. Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) induced ear inflammation in transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptor transgenic mice. *Acta Pharmacol Sin* 2006;Suppl. 1:111. IF: 1,397

Egyéb közlemények

- Bánvölgyi Á., Pozsgai G, Brain SD, et al. Mustard oil induces a TRPV1 receptor independent neurogenic inflammation and a non-neurogenic cellular inflammatory component. *Neuroscience* 2004;125:449-459. IF: 3,456
- Bánvölgyi Á, Pálkás L, Berki T, et al. Evidence for a novel protective role of the vanilloid TRPV1 receptor in a cutaneous contact allergic dermatitis model. *J Neuroimmunol* 2005;169:86-96. IF: 2,824
- Helyes Zs, Pintér E, Németh J, et al. Effects of the somatostatin receptor subtype 4 selective agonist J-2156 on sensory neuropeptide release and inflammatory reactions in rodents. *Br J Pharmacol* 2006;149:405-415. IF: 3,825
- Helyes Zs, Elekes K, Németh J, et al. Role of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 receptors in endotoxin-induced airway inflammation in the mouse. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:L1173-1181. IF: 4,250
- Elekes K., Helyes Zs, Németh J, et al. Role of capsaicin-sensitive afferents and sensory neuropeptides in endotoxin-induced airway inflammation and consequent bronchial hyperreactivity in the mouse. *Regul Pept* 2007;141:44-54. IF: 2,442
- Elekes K, Helyes Z, Kereskai L, et al. Inhibitory effects of synthetic somatostatin receptor subtype 4 agonists on acute and chronic airway inflammation and hyperreactivity in the mouse. *Eur J Pharmacol* 2007 (in press). IF: 2,522