

CAPSAICIN-ÉRZÉKENY AFFERENTACIÓ ÉS AZ EMBERI GASZTROINTESTINÁLIS TRAKTUS.

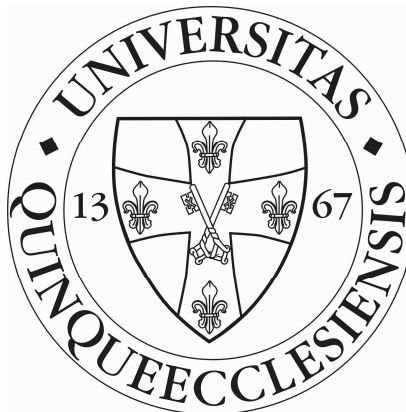
Doktori (Ph.D.) tézis

Dr. Dömötör András

Gyógyszertudományi doktori iskola:

„Optimális gyógyszeres kezelés”

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ I. sz. Belgyógyászati Klinika



Programvezető: Prof. Dr. Botz Lajos, PhD, ScD

Témavezető: Prof. Dr. Mózsik Gyula, PhD, ScD,

Pécs, 2014.

Rövidítések

ASA	acetilszalicilsav
CGRP	calcitonin génhez rendelt peptid
ED₅₀	50 % effektív dózis
h	óra
H. pylori	Helicobacter pylori
min	perc
PPI	proton pumpa inhibitor
SP	P anyag
SS	somatostatin
TRPV1	transient receptor potential vanilloid 1
[¹³C] UBT	[¹³ C] urea kilégzési teszt

1. BEVEZETÉS

A capsaicinoidok (capsaicin, dihydrocapsaicin, nordihydrocapsaicin és a többi capsaicinoidok) az erős paprika aktív összetevői, amelyet a mindennapi táplálkozásban széles körben használnak.

Fontos felfedezés volt, hogy a capsaicinoidok módosítják egyes speciális idegek/idegvégződések funkcióit, mely idegeket később capsaicin-érzékeny (szenzitív) idegrostoknak neveztek el (Jancsó et al., 1967; 1968; 1970). Capsaicin(oidok) a capsaicin (vanilloid) receptort aktiválja/aktiválják, mely receptort az elsődleges fájdalomérző idegek alcsoportja expresszálja/hordozza (Szolcsányi, 2004). A capsaicin receptor klónozása, feltérképezése, részletes vizsgálata megtörtént (Caterina et al., 1997), amely egy kation csatornának bizonyult. Ez a receptor a capsaicin és más capsaicinoidok (vanillioidok) mellett ezektől eltérő ingerekkel/hatásokkal (alacsony pH, magas hőmérséklet és más fájdalomérzetet kiváltó exogén és endogén kémiai anyagok) is aktiválható. Így az ilyen receptort hordozó idegvégződések a gyomor nyálkahártyában is stimulálhatóak.

A capsaicin dózisfüggő módon fejt ki hatását a capsaicin szenzitív afferens rostokratása.

A capsaicin ezen afferens idegekre gyakorolt hatásában Szolcsányi (1984) négy különböző szakaszt figyelt meg (ezek a capsaicin beadott dózissal és a beadás időtartalmával függtek össze) és a következők voltak: (a) ingerlés; (b) érzékelést gátló hatás; (c) hosszú távú szelektív neuron gátlás (stage 3); and (d) irreverzibilis sejt károsodás (stage 4). Az első két állapotban a capsaicin afferens idegekre gyakorolt hatása visszafordítható, míg a második két lépésben visszafordíthatatlan. A capsaicin hatásának ezen szakaszai a gyomor-bélrendszerben is megfigyelhetőek.

Szolcsányi és Barthó (1981) figyelték meg a világon először, hogy a capsaicin(oidok) kis (ingerlő mértékű) dózisban meggátolják (kivédik, megelőzik), míg nagy adagban elősegítik a gyomornyálkahártya károsodás kialakulását. Mindezek után Peter Holzer (Graz, Ausztria) alapos és részletes állatkísérletes kutatásokat végzett, amelynek folytán igazolta a capsaicin(oidok) Szolcsányi és Barthó által megfigyelt hatásait.

Kis (ng- μ g/testtömeg kg közötti) dózisú capsaicinnal ingerelve ezen idegeket neurotranszmitterek [substance P (SP), calcitonin-génhez rendelt peptid (CGRP), somatostatin (SS), stb.,] szabadulnak fel az idegvégződésekből, melyek a capsaicin gyomor-bélrendszerre gyakorolt élettani hatásáért tehetőek felelőssé.

A gyomornyálkahártya károsodás kialakulásában központi szerepe van a bolygóidegnek (n. vagus). A X. agyideg ezen központi szerepét- állatkísérletes modellek és a mindennapi klinikai gyakorlat alapján - elsősorban a gyomornyálkahártya károsodás agresszív folyamataiban feltételezzük (gyomorfekély betegség, gastritis stb.) Így nem csoda, hogy a „kémiai” és „sebészi” vagotómia a fekélybetegségben szenvedők széles körénél elfogadott, alkalmazott terápiás eljárás volt az 1970-es évektől napjainkig. A kezelések elsődleges célja a bolygóideg aktivitásának csökkentése volt az efferens idegrostok szintjén, ezek gátlása révén.

A capsaicin állatkísérletes alkalmazása lehetőséget biztosított az elsődlegesen fájdalomérzékelő idegek élettani és kórélettani folyamatokban betöltött szerepének vizsgálatában, tanulmányozásában.

Munkacsoportunk az 1980-as évektől kezdődően állatkísérletes modelleken, míg 1997-től kezdődően egészséges személyeken végzett megfigyelései révén kapcsolódott be capsaicin gyomor-bélrendszeri hatásainak a kutatásába.

A capsaicin állatkísérletes modellekben történt alkalmazása során nyert új és figyelemfelkeltő eredmények alapján felmerült a lehetősége, hogy a capsaicin kutatás egy új irányt nyisson meg emberekben és betegekben a gyomor élettani, patológiai és gyógyszeres folyamatjainak tanulmányozására.

Egészséges egyéneken vizsgáltuk a capsaicinnek a gyomor alap savtermelésre, a gyomornedv összetétel változtatására (parietális és non-parietális komponens), a gyomor etanol indukálta transzmucosális potenciál különbség változására és az indometacin kiváltotta gyomornyálkahártya mikrovérzések mennyiségére gyakorolt hatását. Ezek a vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Regionális Etikai Bizottsága engedélyével készülték.

Mindezek alapján igazolódott, hogy a capsaicin dózisfüggő módon csökkenti a gyomorsav alapszekrécióját, emeli a gyomor transzmucosali potenciál különbségét, kivédi az etanol okozta gyomor transzmucosalis potenciálkülönbség változást; csökkenti az indometacin okozta gyomornyálkahártya vérzések mennyiségét, csökkenti a gyomornedv parietális komponensének és ezzel párhuzamosan növeli a non-parietális összetevő mennyiségét. A capsaicin stimuláló (ingerlő) dózis tartományban (200-1200 µg) történt alkalmazása során az 50% hatásos dózis (ED₅₀) 400 µg-nak bizonyult.

A fenti eredményeket munkacsoportunk korábban már publikálta.

Korábban a capsaicin hatását elemző vizsgálataink egészséges egyéneken jól megtervezett, megfelelő alaposítással kivitelezett, kontrollált körülmények között

történtek, a „jó klinikai gyakorlat (GCP)” elvének megtartása mellett. Mindazonáltal különböző természetű gyomor-bélrendszeri betegségekben szenvedő betegekben is szeretnénk volna tanulmányozni a capsaicin hatását.

A gastrointestinális betegségben szenvedő páciensek vizsgálatai előtt figyelembe kellett venni, meg kell fontolni néhány egyéb szempontot is:

- a. a gastrointestinális betegségek kezdetéről nincs pontos információnk;
- b. a capsaicin-szenzitív afferens idegrostok emberi betegségekben betöltött szerepéről nem volt kellő információ a világirodalomban;
- c. a szakorvosi vizsgálatra vagy kórházi felvételre kerülő betegek összetétele független a vizsgálatot végző kutatóktól;
- d. a betegellátás etikai szabályai alapvetően egyértelműek, ezek mellett további speciális engedélyeket kellett kérni a Pécsi Tudományegyetem Regionális Etikai Bizottságától;
- e. a lehetőségek behatároltak a szükséges minták gyűjtésével kapcsolatban;
- f. nehézségekbe ütközik ezen heterogén beteganyagból a tudományos vizsgálathoz szükséges homogén betegcsoportot képezni;
- g. a capsaicin-szenzitív afferens idegrostok lokalizációjánka, szerepének kimutatása szinte csak speciális immunhisztokémiai módszerrel lehetséges szövettani mintákból (a hagyományos klinikailag alkalmazott szövettani vizsgálatok mellett).

A különböző betegségekben (gyomorfekély, erózió, gyomorpólip, gyomorcarcinoma, gyulladásgalós bélbetegség, vastagbél pólip, vastagbél daganat) szenvedő betegek különböző szerveiből (gyomor, vastagbél) származó mintákon végeztünk bonyolult, speciális immunhisztokémiai vizsgálatokat. A betegek 2003-2010 közötti időszakban részesültek egészségügyi ellátásban. Ezen vizsgálatainkban arra kerestünk választ, hogy a capsaicin-szenzitív afferentiáció egyáltalában részt vesz-e?

Szisztematikus vizsgálataink során krónikus gastritisben szenvedő betegek szövettani mintáit kívántuk tanulmányozni. Ezt a betegséget igen változatos tényezők széles skálája (kémiai ágensek, virális és bakteriális fertőzések, immunmechanizmusok, savas és epés reflux stb.) okozhatja. Figyelmünket a capsaicin-szenzitív afferens rostok lehetséges szerepére fókuszáltuk a *H. pylori* pozitív vagy negatív krónikus gastritisek kialakulásában. (Itt a *H. pylori* fertőzés, mint jól definiálható etiológiai kiváltó ok és a capsaicin-szenzitív afferentiáció kapcsolatát vizsgáltuk).

Ezt a gondolatot folytatódóan prospektív vizsgálatokban arra kerestünk választ, hogy a *H. pylori* pozitív gastritisek eradikációs terápia előtti és utáni állapotában milyen

változásokat kapunk a capsaicin-szenzitív rendszerben (amikor az eradikációs terápia jó hatásfokú volt, a hisztológiai kép normalizálódást mutatott, s a beteget sikeresen gyógyultnak tekinthettük a klinikai paraméterek alapján).

Végezetül 14 egészséges önkéntesen vizsgáltuk a capsaicin ($ED_{50}=400 \mu\text{g}$) vékonybélből történő cukorfelszívódásra gyakorolt hatását, mivel állatkísérletes modellekben ismert volt, hogy a capsaicin a vékonybél nyálkahártyájában vasodilatációt okoz. Ez a cukorfelszívódás egy bonyolult aktív transzport mechanizmus [magába foglalja a cukor aktív felszívódását, különböző hormonális (inzulin, glucagon) szabályozó mechanizmusokat, glycogen szintézist és a májból történő mobilizációját]. Ezek a mechanizmusok egészséges egyének cukorterhelési vizsgálata során időben jól elkülöníthetőek.

2. CÉLKITŰZÉSEK

2.1. A capsaicin receptor (TRPV1) és ez által a capsaicin-szenzitív afferens rostok valamint a belőlük felszabaduló neurotranszmitterek (SP, CGRP) jelenlétének és immuneloszlásának vizsgálata különböző gyomor-bélrendszeri betegségekben szenvedő páciensek gyomor/vastagbél nyálkahártyájából származó szövettani mintákban (függetlenül a betegség előrehaladottságától, állapotától, a kapott gyógyszeres kezeléstől, valamint a betegek életkorától).

2.2. A capsaicin receptor (TRPV1) a korábban ismertetett neurotranszmitterek (SP, CGRP) immuneloszlásának vizsgálata H. pylori pozitív vagy negatív krónikus gastritisekben. Bár a krónikus gastritisben szenvedő betegeinknél a kóreredet nem volt egyértelműen tisztázható, de egy fontos kóroki faktort, a H. pylori fertőzés jelenlétét/hiányát különböző módszerekkel (urea kilégzési teszt, rapid ureáz teszt, Warthin-Starry festés és speciális immunhisztokémiai technikák) igazoltuk/cáfoltuk.

2.3. A H. pylori eradikáció hatásosságának és ezen terápiának a TRPV1, CGRP és a SP immuneloszlására gyakorolt hatásának vizsgálata krónikus gastritisben szenvedő betegnél.

2.4. A capsaicin(oidok) vékonybélből történő cukorfelszívódásra gyakorolt hatásának valamint ebben a folyamatban résztvevő hormonális mechanizmusok tanulmányozása egészséges egyékekben cukorterhelési teszt során egyidejű capsaicin (400 μg) alkalmazásával vagy a nélkül.

3.VIZSGÁLT BETEGEK ÉS CSOPORTJAINK VALAMINT AZ ALKALMAZOTT ELJÁRÁSOK

A tanulmányok 250 személy bevonásával történtek (196 különböző gyomor-béلبetegségekben szenvedő beteg és 54 egészséges egyén).

A vizsgálatokat a Pécsi Tudományegyetem Regionális Etikai Tanácsának engedélyével végeztük. Minden résztvevő írásos beleegyező nyilatkozatot tett.

3.1. A vanilloid receptor, a CGRP és a SP immunhisztokémiai eloszlásának vizsgálata különböző gastrointestinalis betegségekben szenvedő egyénekből származó szövettani mintákban.

Az ebben a tanulmányban vizsgált betegek (127 egyén, 68 férfi, 59 nő) különböző gyomor vagy vastagbél betegségek miatt álltak kezelés alatt. A betegek életkora 21-84 év közötti volt. A betegségek a következők voltak: felületes gastritis (51), erozív gastritis (5), gyomorfekély (4), gyomor polip (6), gyomor adenocarcinoma (4), gyulladós béلبetegség (17), hyperplasticus polip (17), dysplasticus polip (17), vastagbél adenocarcinoma (6).

3.2. A capsaicin-szenzitív afferens rostok vizsgálata *H. pylori* pozitív vagy negatív krónikus gastritisben szenvedő betegek gyomornyálkahártyáiból származó szövettani mintákban.

Ötvenegy krónikus gastritis (21 *H. pylori* pozitív, 30 *H. pylori* negatív) miatt kezelt beteg és húsz szövettanilag egészséges, funkcionális dyspepsiával kezelt egyén mintáit vizsgáltuk a tanulmány során. A résztvevők életkora 39-68 év közötti volt.

3.3. A gyomornyálkahártya capsaicin-szenzitív afferentációjában (TRPV1, SP, CGRP) bekövetkező változások tanulmányozása *H. pylori* pozitív gastritisben eradikációs terápia hatására.

A megfigyelésekben 38 személy vett részt, 20 szövettanilag egészséges, funkcionális dyspepsia miatt vizsgált egyén (életkor 41-67 év, átlag: 52,1 év) valamint 18 *H. pylori*val is fertőzött gastritisben szenvedő beteg (életkor 39-68 év, átlag: 56,4 év).

3.4. A capsaicin hatásának tanulmányozása a cukor felszívódásra és hasznosulásra egészséges egyénekből.

Tizennégy önkéntes (átlag életkor 45 ± 5 év) vett részt ebben az önkontrollos vizsgálatban.

Vizsgálati eljárások

Minden immunhisztokémiai vizsgálatba bevont beteg kórházi felvételre került vagy a Pécsi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikájára vagy a Szombathelyi Markusovszky Kórház Belgyógyászati Osztályára és ott részletes kivizsgáláson (fizikális vizsgálat, képkötő vizsgálatok, laboratóriumi vizsgálatok, tápcsatorna tükrözések és szövettani vizsgálatok) esett át.

A nyálkahártya mintákat tápcsatorna tükrözés során nyertük a gyomor vagy vastagbél patognómikus elváltozásából.

A szövettani mintákat ezután kórszövettani vizsgálatok alá vetették és azokat egy, a gyomor-bélrendszeri betegségekben jártas, független patológus elemezte, osztályozta (Sydney klasszifikációnak megfelelően).

H. pylori kimutatás

A H. pylori kimutatása több módszerrel történt úgymint urea kilégzési teszt, gyors ureáz teszt, Warthin-Starry festés és speciális immunhisztokémiai technikával.

H. pylori eradikációs protokoll

A H. pylori eradikáció során a betegek 7 napig dupla dózisú pantoprazolt (2x40 mg/nap), amoxicillint (2x1000 mg/nap) és clarithromycint (2x500 mg/nap) kaptak, az akkor aktuális Európai irányelveknek megfelelően. A második héttől egyszeri dózisú pantoprazol terápiában részesültek. Az első és a kontroll felső tápcsatorna tükrözés között hat hét telt el. A betegekhez hasonlóan a szövettanilag egészséges egyéneknél is a gyomor corpusából és az antrumból is nyertek mintákat. A betegek panaszait, tüneteiket kérdőív segítségével mértük fel az eradikáció előtt és után.

Immunhisztokémiai eljárás

Az immunhisztokémiai vizsgálatok a Hisztopathológiai Kft-ben (Pécs, Magyarország) készültek formalinban fixált, parafinba ágyazott nyálkahártya mintákon peroxidáz-jelölt polimeráz technikával (Vision Co., Vermont USA). A SP kimutatására NC1/34 HL patkány monoklonális ellenanyagot, míg a TRPV1 és CGRP esetén nyúl poliklonális ellenanyagot (mindegyik Abcam Ltd, Cambridge, UK) használtunk. Az immunhisztokémiai vizsgálatokat fénymikroszkóp (Olympus) segítségével értékeltük.

A TRPV1 és CGRP értékelése során pozitív és negatív eseteket észleltünk, míg a SP esetén úgynevezett „SP indexet” használtunk. Ez a szemikvantitatív érték nem kevesebb, mint öt nagy nagyítású látómező áttanulmányozása során észlelt immunjelölődéseket tartalmazta. Ha egy mezőben nem volt jel, akkor nulla pontot, ha egy jelet észleltünk, akkor egy pontot, míg kettő vagy több jelölődés esetén két pontot

adtunk. Az így kapott pontszámot a nagy nagyítású mezők számával elosztva kaptuk a „SP indexet”. Ezek alapján a mintákat három kategóriába soroltuk: gyenge, közepes és erős jelölődés.

1. táblázat. A egészséges és krónikus gastritisben szenvedő betegek SP immuneloszlás során használt szemikvantitatív SP „index” érték beosztása különböző erősségű csoportokba.

SP értékelés	SP-index
Gyenge	$<0,5$
Közepes	$0,5 \leq \text{és} <1$
Erős	$1 \leq$

Cukorterhelési teszt és a vizsgált paraméterek

Minden egészséges személy 75 g glükózt kapott 100 ml vízben feloldva és az első alkalommal capsaicin nélkül majd 400 µg capsaicinnel együtt fogyasztotta el. Ezt követően 4 órán keresztül, 15 percenként néztük a plazma vércukor (mmol/l), inzulin (µIU/ml), glucagon (ng/ml) és C-peptid (pg/ml) szintjét.

Statisztikai analízis

A TRPV1 és CGRP immuneloszlása esetén a statisztikai elemzést χ^2 próba segítségével végeztük, míg a SP esetén Mann-Whitney U tesztet használtunk.

A cukorterhelési vizsgálat statisztikai elemzése során kettős Student T tesztet használtunk. Az eredmények szignifikánsnak bizonyultak, ha a P értéke kisebb vagy egyenlő volt, mint 0,05.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A vanilloid receptor, a CGRP és a SP immunhisztokémiai eloszlásának vizsgálata különböző gastrointestinalis betegségekben szenvedő egyénekből származó szövettani mintákban.

A TRPV1 immunjelölődéseket finom, egyenletes szemcsés eloszlás formájában figyeltük meg a gyomor és vastagbél epithel sejtjeinek citoplazmájában. A különböző vastagbél betegségekben szenvedő betegek mintáiban észleltünk továbbá egy körülhatárolt, foltszerű pozitivitást a sejten belül, melyet „folt-szerű” pozitivitásként értékeltünk.

A CGRP immunjelölődését szintén finom, egyenletes szemcsés eloszlás formájában figyeltük meg a gyomor és vastagbél epithel sejtjeinek citoplazmájában.

A SP immuneloszlásában apró, pontszerű pozitívításokat figyelhettünk meg a nyálkahártya erei mentén.

A TRPV1, CGRP és SP gyomor nyálkahártya mintákban észlelt immuneloszlásának eredményeit a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. táblázat. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlásának változása különböző gyomorbetegségben szenvedő betegek szövettani mintáiba. A zárójelben szereplő számok az esetszámot mutatják.

	Kontroll csoport	Krónikus gastritis	Gyomor erózió	Gyomorfekély	Gyomorpólip	Gyomor carcinoma
TRPV1						
pozitív	20% (4)	69% (35)	80% (4)	50% (2)	66.7% (4)	66.7% (2)
negatív	80% (16)	31% (16)	20% (1)	50% (2)	33.3% (2)	33.3% (1)
CGRP						
pozitív	30% (6)	59% (30)	60% (3)	50% (2)	66.7% (4)	100% (4)
negatív	70% (14)	41% (21)	40% (2)	50% (2)	33.3% (2)	0% (0)
SP						
gyenge	75% (15)	59% (29)	60% (3)	50% (2)	100% (6)	80% (3)
közepes	0% (0)	14% (7)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	20% (1)
erős	25% (5)	27% (13)	40% (2)	50% (2)	0% (0)	0% (0)

A különböző vastagbél betegségekben szenvedő betegtől származó minták immunhisztokémiai vizsgálatának eredményét a 3. táblázatban összegezzük.

3. táblázat. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlásának változása a vastagbél különböző betegségeiben szenvedő betegek szövettani mintáiba. A zárójelben szereplő számok az esetszámot mutatják.

	Gyulladásos bélbetegség	Hyperplasticus vastagbél polip	Diszplastikus vastagbél polip	Vastagbél carcinoma
TRPV1				
negatív	29.4% (5)	70.6% (12)	17.6% (3)	16.7% (1)
pozitív	59.8% (10)	0% (0)	5.9% (1)	0% (0)
“folt-szerű”	11.8% (2)	29.4% (5)	76.5% (13)	83.3% (5)
CGRP				
negatív	40.2% (7)	82.4% (14)	94.1% (16)	16.7% (1)
pozitív	59.8% (10)	12.6% (3)	5.9% (1)	83.3% (5)
SP				
gyenge	5.9% (1)	70.6% (12)	82.4% (14)	66.6% (4)
közepes	17.6% (3)	11.8% (2)	5.9% (1)	16.7% (1)
erős	76.5% (13)	17.6% (3)	11.8% (2)	16.7% (1)

A gyulladásos bélbetegségeiben szenvedő betegek mintáiban mindhárom vizsgált paraméter pozitívítást mutatott. A TRPV1 a diszpláziát mutató vastagbél polipokban és

a vastagbél daganatokban is pozitívnak bizonyult, továbbá a CGRP pozitívását is meg lehetett figyelni vastagbél daganatokban, míg a SP-t sem a hyperplasticus sem a dysplasiát mutató polipokban, sem pedig a vastagbél daganatokban nem tudtuk kimutatni (4. táblázat).

4. táblázat. A TRPV1, CGRP és SP immunhisztokémiai pozitívításának megoszlása különböző vastagbél betegségekben.

	TRPV1	CGRP	SP
Gyulladásos bélbetegség	+	+	+
Hyperplasticus vastagbél polip	-	-	-
Dysplasticus vastagbél polip	+	-	-
Vastagbél carcinoma	+	+	-

4.2. A TRPV1, CGRP és SP immunhisztokémiailag igazolt jelenléte és immuneloszlása H. pylori fertőzött és nem fertőzött krónikus gastritisben szenvedőknél.

Mindhárom „marker” (TRPV1, CGRP, SP) vizsgálat során a pozitív esetekben a korábbi megfigyelésen is észlelt immunmorfológiai megjelenést (lásd fentebb) tapasztaltuk.

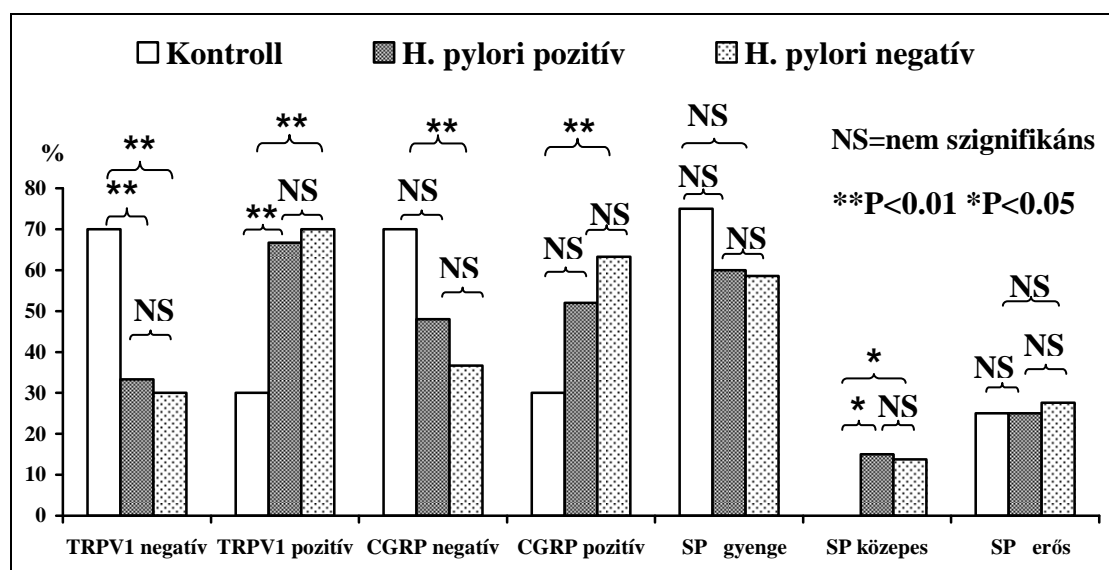
Krónikus gastritisben szenvedőknél a TRPV1 immunfestéssel pozitív esetek jelentősen nagyobb számban fordultak elő, mint a kontroll csoportban. A H. pylori pozitív vagy negatív krónikus gastritisben szenvedő betegek mintái - TRPV1 immuneloszlását tekintve - érdemben nem különböztek egymástól.

A CGRP immuneloszlásának vizsgálata során a H. pylori negatív krónikus gastritisben szenvedők mintáiban szignifikánsan több pozitív esetet figyeltünk meg, mint a kontroll csoportban. A H. pylori pozitív gastritises betegek és a kontroll csoport összehasonlítása során azt tapasztaltuk, hogy a pozitív esetek száma jelentősen nőtt, de ez nem érte el a szignifikancia szintet. A H. pylori pozitív vagy negatív gastritises betegek mintáiban - CGRP immuneloszlását tekintve - jelentős különbséget nem észleltünk.

Immunhisztokémiai vizsgálatink során a SP immuneloszlásában (az SP „indexet” használva) a gyengén és erősen pozitív esetekben sem a kontroll csoporthoz sem a H. pylori pozitív vagy negatív gastritises betegek egymáshoz viszonyított mintáiban nem tudtunk jelentős különbséget kimutatni, míg a SP-vel közepes „festődést” mutató esetek száma szignifikáns mértékben emelkedett. A vizsgálat eredményeit az 5. táblázatban és az 1. ábrán foglaltuk össze.

5. Táblázat. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlása egészséges egyénekből (kontroll), H. pylorival fertőzött és H. pylori fertőzéstől mentes, krónikus gastritisben szenvedő betegekből származó szövettani mintákban. A zárójelben szereplő számok az esetszámot mutatják.

.	TRPV1 pozitív	TRPV1 negatív	CGRP pozitív	CGRP negatív	SP gyenge	SP közepes	SP erős
Kontroll	20 % (4)	80 % (16)	30 % (6)	70 % (14)	75 % (15)	0 % (0)	25 % (5)
H. pylori pozitív	66.7 % (14)	33.3 % (7)	52 % (11)	48 % (10)	60 % (12)	15 % (3)	25 % (5)
H. pylori negatív	70 % (21)	30 % (9)	63.3 % (19)	36.7 % (11)	58.6 % (17)	13,8 % (4)	27.6 % (8)



1. ábra. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlásának aránya és statisztikai elemzése egészséges egyénekből (kontroll), H. pylorival fertőzött és H. pylori fertőzéstől mentes, krónikus gastritisben szenvedő betegekből származó szövettani mintákban.

4.3. Az eradikációs terápia sikerességének és a TRPV1, CGRP és SP immuneloszlásában bekövetkező változások tanulmányozása H. pylori pozitív gastritisben szenvedő betegeknél H. pylori eradikáció előtt és után.

A H. pylori pozitív gastritisben szenvedő betegek eradikáció előtti tünetei nem voltak jellegzetesek: hasi/epigastriális fájdalom (14/18, 77 %), nyelőcsőégés (13/18, 72 %), hányinger, hányás (9/18, 50 %), puffadás (9/18, 50 %), szorulás (6/18, 33%).

Szövettanilag közepesen súlyos és súlyos gyulladást lehetett megfigyelni a H. pylori pozitív gastritises egyének eradikáció előtti mintáiban.

A baktérium eradikációja a 18 vizsgált egyén közül 16 esetben sikeres volt (89 %). A terápia után 7 betegnél csökkentek a panaszok (7/18, 39 %) és 11 beteg panaszmentessé vált (11/18, 61 %).

Az eradikációs kezelés után szövettanilag egészséges gyomornyálkahártyát csak 4 esetben lehetett megfigyelni, míg 14 esetben csak a gyulladás mértéke csökkent.

Az immunhisztokémiai vizsgálat során TRPV1 pozitivitást az egészséges egyének 37 %-ában (7/20), gastritises betegek eradikáció előtti mintáinak 89 %-ában (16/18) és eradikáció utáni minták 72 %-ában (13/18) lehetett kimutatni.

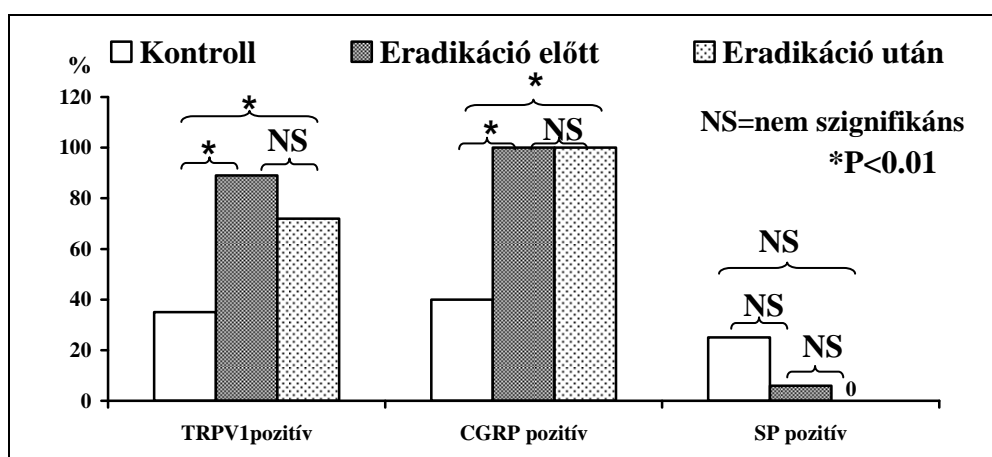
A H. pylori pozitív gastritises egyének eradikáció előtti és utáni mintái CGRP immunfestés során egytől egyig pozitívak voltak (18/18, 100 %). A kontrollcsoport esetében ez az arány 40 % (8/20) volt.

A SP immunhisztológiailag pozitív esetek mértéke H. pylori eradikáció előtt 5,5 % (1/18), eradikáció után 0 % (0/18) és a kontrol csoportban 25 % (5/20) tett volt.

A vizsgálat eredményeit a 6. táblázatban foglaltuk össze. Érdekességként megjegyezzük, hogy a H. pylori pozitív gastritises betegek és az egészséges egyének mintáiban a SP immuneloszlása enyhe csökkentést mutatott.

6. táblázat. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlása egészséges egyénekből (kontroll) és H. pylorival fertőzött krónikus gastritisben szenvedő betegekből származó szövettani mintákban H. pylori eradikáció előtt és után. A zárójelben szereplő számok az esetszámot mutatják.

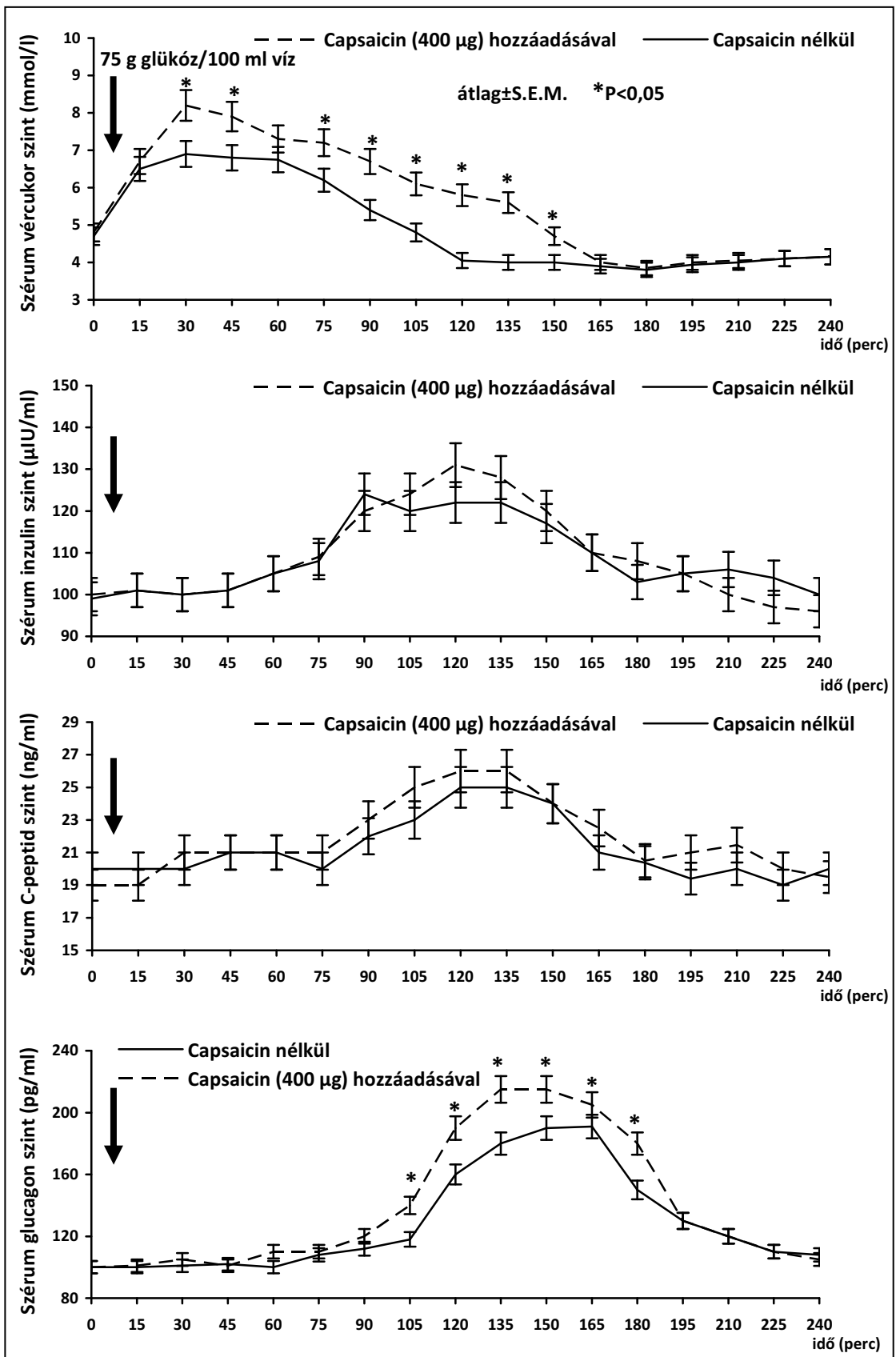
	TRPV1		CGRP		Substance P	
	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Eradikáció előtt (n=18)	88.89 % (16)	11.11 % (2)	100 % (18)	0 % (0)	5.56 % (1)	94.44 % (17)
Eradikáció után (n=18)	72.22% (13)	17.78% (5)	100 % (18)	0 % (0)	0 % (0)	100 % (18)
Kontroll csoport (n=20)	35 % (7)	65 % (13)	40 % (8)	60 % (12)	25 % (5)	75 % (15)



2. ábra. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlásának aránya és statisztikai elemzése egészséges egyénekből (kontroll) és H. pylorival fertőzött krónikus gastritisben szenvedő betegekből származó szövettani mintákban H. pylori eradikáció előtt és után.

4.4. A capsaicin hatásának tanulmányozása a cukor felszívódásra és felhasználásra egészséges egyéneknél.

Egészséges egyéneknél cukorterhelési tesztje során capsaicin (400 µg orális) adása után a vércukorszint 30 és 150 perc között mért értékei, valamint a glukagon 90 és 180 perc között mért értékei jelentős mértékben emelkedtek. A vérplazma inzulin és C peptid szintje a cukorterhelés során normálisan 75 és 165 perc között emelkedik, mely szignifikánsan nem tért el a capsaicin cukorral történő együttes adását követően sem (3. ábra).



3. ábra. A vérplazma glükóz, inzulin, C-peptid és glucagon szintjének változása cukorterhelés (75 g glükóz/100 ml víz) során capsaicin (400 µg) adása mellett és capsaicin nélkül.

5. DISZKUSSZIÓ

Munkacsoportunk a capsaicin kutatás területén, állatkísérletes modelleken majd később egészséges egyéneken szerzett megfigyeléseit már korábban publikálta. Ezek a vizsgálatok alapos tervezéssel, megfelelő minőségű kivitelezéssel (Good Clinical Practice), prospektív, randomizált módon történtek. A vizsgálatokból származó eredmények egyértelműen bizonyították, hogy a capsaicin (igen kis mennyiségben, ingerlő dózisban) szájon át alkalmazva képes kivédeni az etanol vagy indomethacin okozta gyomornyálkahártya károsodást. Fontos megjegyezni továbbá, hogy két hetes folyamatos capsaicin kezelésnek (3x400 µg/nap, orálisan) sem volt deszenzibilizáló hatása.

A tézisfűzetben szereplő eredmények a tudomány e területén az első objektív adatok (eredmények). Kritikai szemmel nézve ezen vizsgálatok kivitelezése igen nehéz feladatnak bizonyult (figyelembe véve a beteg csoportok kialakítását és jelenlegi egészségügyi ellátás helyzetét).

Jelen eredményeink valószínűsítik, hogy a capsaicin-szenzitív afferens rostoknak szerepe van a különböző gasztrointesztinális kórképekben kialakulásában, bár nem volt lehetőségünk annak pontos tanulmányozására, hogy a TRPV1 és a felszabaduló neurotranszmitterek (SP, CGRP) jótékony vagy káros hatást fejtenek-e ki e betegségekben.

A krónikus gastritisben szenvedő betegek tanulmányozása során tapasztaltuk, hogy a TRPV1 és a felszabaduló CGRP részt vesz a betegség kialakulásában és ez a szerep nem függ a kiváltó faktor (H. pylori fertőzés versus egyéb tényezők) mibenlététől.

Érdekesnek tartjuk továbbá, hogy vizsgálatunk alapján a TRPV1 és CGRP fokozott aktivitása nem változik a H. pylori pozitív gastritisben szenvedő betegek sikeres eradikációs terápiája után. Ezek az eredmények azt feltételezik, hogy a capsaicin-szenzitív afferens idegek gyomornyálkahártya „védő” feladata független az eradikációs terápiától. Ez a felismerés új lehetőséget kínál egy capsaicin tartalmú gyógyszer esetleges kipróbálására a krónikus gastritisben szenvedő betegek kezelésében.

Végezetül az egészséges egyéneken cukorterhelési tesztje során szerzett tapasztalataink igazolják, hogy a capsaicin fokozza a vékonybélből a cukor felszívódását majd a glucagon szintjének emelkedését, azaz felhívják figyelmünket, hogy a capsaicin hatást gyakorol a szénhidrát háztartásra is.

6. ÚJ EREDMÉNYEK

1. A TRPV1, CGRP és SP immunhisztokémiai módszerrel tanulmányozhatók különböző gastrointestinalis betegségekben szenvedő egyének szövettani mintáiba, azaz a capsaicin-szenzitív afferens idegek és a belőlük felszabaduló neurotranszmitterek részt vesznek különböző gastrointestinalis betegségek kialakulásában.
2. A TRPV1, CGRP és SP immuneloszlása eltérő a felső és alsó béltraktusban.
3. A capsaicin szenzitív afferens idegek krónikus gastritisben betöltött szerepe nem függ a *H. pylori* fertőzés jelenlététől.
4. A capsaicin-szenzitív afferens rostoknak permanens védő szerepe lehet különböző anyagok által kiváltott gyomornyálkahártya károsodásban.
5. A capsaicin-szenzitív afferens rostok (TRPV1 és CGRP immuneloszlása alapján) fokozott aktivitása (egészséges egyénekkel összehasonlítva) illetve sikeres *H. pylori* eradikáció után sem csökkenő aktivitásuk alapján felmerül ezen idegrostok szerepe a gyomornyálkahártya gyógyulási folyamatában (ez egy új capsaicin-szenzitív afferens idegi védő mechanizmus a krónikus *H. pylori* pozitív gastritis gyógyításában).
6. A capsaicin-szenzitív afferens idegrostoknak (az emelkedett glucagon szint kimutatása alapján) fontos szerepe van egészséges emberek szöveti cukorfelhasználásban, mely a capsaicin részvételét jelezheti az emberi szénhidrát anyagcserében.

7. LEHETŐSÉGEK EGY ÚJ, CAPSAICINTARTALMÚ GYÓGYSZER EMBERI GYÓGYÁSZTBAN TÖRTÉNŐ ALKALMAZÁSÁRA

Azok a tények, hogy a krónikus gyomornyálkahártya károsodást különböző kórokok (különös képpen gyógyszerek és más kiváltó faktorok, mint például a *H. pylori* fertőzés) válthatják ki, az orálisan alkalmazott capsaicin kivédi az indomethacin okozta nyálkahártya károsodást valamint immunhisztikémia módszerrel igazolható a capsaicin szenzitív afferens rostok fokozott aktivitása *H. pylori* pozitív vagy negatív krónikus gastritisekben összességében azt tételezik fel, hogy létezik/létezhet egy a capsaicin szenzitív afferens rostok segítségével működő gyomornyálkahártya védelem, azaz a capsaicin önmagában vagy más anyagokkal kombinációban ezen idegrostok ingerlésén keresztül alkalmazható lehet az emberi gyógyászatban.

Másképpen megfogalmazva az alacsony dóziszú capsaicin gyomorvédő hatása felhasználható lehet: a krónikus gastritisek kezelésében illetve a széles körben (szív érrendszere betegségeiben, agyi infarctus kezelésében vagy reumatológiai betegségeiben) alkalmazott a non-szeroid gyógyszerek mellékhatásaként megjelenő gyomornyálkahártya károsodás megelőzésében, kivédésében.

Az utóbbi években növényi eredetű capsaicin önálló és különböző kombinációkban (capsaicin + acetilszalícilsav, capsaicin + diclofenac és capsaicin + naproxen) történő alkalmazhatóságát vizsgálják a Pécsi Tudományegyetem több intézete és klinikája így a Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet, az I. sz. Belgyógyászati Klinikája és a Gyógyszerészeti Kémiai Intézet továbbá a Pannonpharma Kft bevonásával egy közös gyógyszerfejlesztési terv keretien belül.

A háromból fázis I. vizsgálatból kettő (capsaicin + ASA és capsaicin + diclofenac). elvégzése már megtörtént egészséges önkénteseken, melyek eredményei a következők:

1. A capsaicin (400 és 800 µg dózisban szájon át) önmagában vagy más gyógyszerekkel kombinációban alkalmazva nem mutatható ki egészséges egyének vérplazmájában (mely azt feltételezi, hogy a gyógyszerészeti/gyógyszer minőségű capsaicin elsődlegesen helyileg hat vagy a gyógyszergerár kiváló bioadhezív molekulával ötvözze a capsaicint, azaz nem tud felszívódni).
2. A capsaicin különböző dózisa sem változtatták meg a z ASA és a diclofenac farmakokinetikai tulajdonságait;
3. A capsaicinnek (capsaicinoidoknak) önmagukban nincs hatásuk a thrombocytá aggregatiora;

4. Az ASA- thrombocyta aggregatio gátló hatása változatlan marad capsaicinnel történő együttes alkalmazása mellett;
5. A capsaicin önálló vagy kombinációban történő gyógyászati alkalmazása új terápiás lehetőségekkel kecsegtet a gastrointestinalis betegségek gyógyításában.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni hálámat mentoromnak, Prof. Dr. Mózsik Gyulának, akiben nem csak egy kiváló kutató és oktatót ismertem meg, hanem egy példaképre is rátaláltam.

Hálás vagyok továbbá az I. sz. Belgyógyászati Klinika Endoszkópos Laboratóriumában dolgozó kollégáimnak (Dr. Vincze Áronnak; Dr. Szabó Imrének Dr. Czimmer Józsefnek) és az ott dolgozó aszisztensnőknek, akik mindvégig támogattak a munkámat.

Külön köszönöm Dr. Szekeres Györgynek és a Hisztopatológiai Kft. dolgozóinak (Keszthelyi Ritának, Meczker Ágnesnek, Hajós Rebekának) a vizsgálatok elvégzésében nyújtott felülmúlhatatlan és önzetlen segítségüket.

Köszönöm továbbá Dr. Kereskay László a pathológiai minták elemzése során nyújtott segítségét.

Hálával tartozom továbbá a szombathelyi Markusovszky Oktatókórház Gasztroenterológiai és Belgyógyászati Osztályán dolgozó kollégáknak (különös képpen Dr. Lakner Lilla és Dr. Döbrönte Zoltán) nélkülözhetetlen együttműködésükért.

Végezetül szeretnék köszönetet mondani Szüleimnek munkámhoz szükséges békés háttér megteremtéséért, feleségemnek, Editnek, kislányomnak, Dórának és kisfiamnak, Palkónak, akik értelmet adnak mindennapjaimnak.

8. PUBLIKÁCIÓS LISTA

A dolgozat alapjául szolgáló közlemények

Mózsik, Gy., Peidl, Zs., Szolcsányi, J., **Dömötör, A.**, Hideg, K., Szekeres, Gy., Karád, O., Hunyady, B.: Participation of vanilloid/capsaicin receptors, calcitonin gene-related peptide and substance P in gastric protection of omeprazole and omeprazole-like compounds. *Inflammopharmacology*. 13:139-159. (2005).

Független hivatkozás: 4 , összes hivatkozás: 6

Dömötör, A., Peidl, Zs, Vincze, Á, Hunyady, B., Szolcsányi, J., Kereskay, L., Szekeres, Gy., Mózsik, Gy.: Immunohistochemical distribution of vanilloid receptor, calitonin-gene related peptide and substance P in gastrointestinal mucosa of patients with different gastrointestinal disorders. *Inflammopharmacology* 13:161-177. (2005).

Független hivatkozás: 36, All citations: 40

Dömötör, A., Szolcsányi, J., Mózsik, Gy.: Capsaicin and glucose absorption and its utilization in human healthy subjects. *Eur. J. Pharmacol.* 534: 280-283 (2006)

IF: 2,522 Független hivatkozás: 10, összes hivatkozás: 13

Mózsik, Gy., **Dömötör, A.**, Abdel-Salam O.M.E.: Molecular pharmacological approach to drug actions on the afferent and efferent fibers of the vagal nerve in the gastric mucosal protection in rats. *Inflammopharmacology* 14:1-7 (2006).

Független hivatkozás: 2, összes hivatkozás: 6

Mózsik, Gy., Szolcsányi, J., **Dömötör, A.**: Capsaicin research as a new tool to approach of the human gastrointestinal physiology, pathology and pharmacology. *Inflammopharmacology*.15:232-245 (2007).

Független hivatkozás: 14 , összes hivatkozás: 21

Mózsik, Gy., **Dömötör, A.**, Rumi, Gy., Szekeres, Gy.: Gastrointestinal cytoprotection: from basic science to clinical perspectives. *Inflammopharmacology* 15:49-60 (2007).

Független hivatkozás: 3 , összes hivatkozás: 4

Dömötör, A., Kereskay, L., Szekeres, Gy., Hunyadi, B., Szolcsányi, J., Mózsik, Gy.: Participation of capsaicin-sensitive afferent nerves in gastric mucosa of patients with Helicobacter pylori-positive or negative chronic gastritis. Dig. Dis. Sci.52:411-4517 (2007).

IF: 1,319

Független hivatkozás: 12 , összes hivatkozás: 18

Mózsik, Gy., Past, T., **Dömötör, A.,** Kuzma, M., Perjési, P.: Production of orally applicable new drug or drug combinations from natural origin capsaicinoids for human medical therapy. Curr. Pharm. Des. 16(10):1197-208 (2010)

IF: 4.774

Független hivatkozás: 2 , összes hivatkozás: 7

Lakner, L., **Dömötör, A.,** Tóth, Cs., Meczker, Á, Hajós, R., Kereskay, L., Szekeres, Gy., Döbrönte, Z., Mózsik, Gy.: Capsaicin-sensitive afferentation represents an indifferent defensive pathway from eradication in patients with H. pylori gastritis. World J Gastroint. Pharmacol. Ther. 2: 36-41 (2011).

Könyvfejezetek

Mózsik, Gy., Szabó, I.L., **Dömötör, A.:** Approach to role of capsaicin-sensitive afferent nerves in the development and healing in patients with chronic gastritis. In: Tonino P.(Ed).Gastritis and Gastric Cancer - New Insights in Gastroprotection, Diagnosis and Treatments. InTech Open Access Publishers. Rijeka. pp. 25-46 (2011).

Mózsik, Gy., **Dömötör, A.,** Czimmer, J., Szabó, I.L., Szolcsányi, J.: Capsaicin-sensitive afferent nerves and the human gastrointestinal tract. In: Mózsik Gy., Abdel-Salam O.M.E, Takeuchi K.(Eds). Capsaicin-Sensitive Neural Afferentation and the Gastrointestinal Tract: From Bench to Bedside. InTech Open Access Publishers. Rijeka. pp. 213-261.

Könyv

Mózsik, Gy., Dömötör, A., Past, T., Vas, V., Perjési, P., Kuzma, M., Blasics, Gy., Szolcsányi, J.: Capsaicinoids: From the Plant Cultivation to the Production of the Human Medical Drug. Akadémiai Kiadó, Budapest (2009).

Összesített impakt faktor: 8,615;

Független hivatkozás: 83; **Összes hivatkozás:** 115.

Absztraktok

Dömötör A., Peidl Zs., Pár A., Gasztonyi B, Király Á., Kereskay L., Szekeres Gy., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: Capsaicin receptor (CR), substance P (SP) and calcitonin gene related peptide (CGRP) in patients with different gastrointestinal disorders. *Z. Gastroenterol.* 43:482, 2005.

Mózsik Gy., Rácz I., **Dömötör A.**, Szekeres Gy., Szolcsányi J.: TRVP1 capsaicin receptors in the GI mucosal damage and protection in human healthy subjects and in patients with different GI disorders. *Acta Pharmacol.Sinica.Suppl.1.Abstacts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China, p 7, 2006.*

Mózsik Gy., **Dömötör A.**: Molecular pharmacological approach to drug acting on the afferent and efferent fibres of vagal nerve in the gastric mucosal protection (animal experiments and human observations). *Digestion 73 Suppl. 2. p 15, 2006.*

Mózsik Gy., **Dömötör A.**: Capsaicin research- as a new tool – to approach the human GI physiology and pathology. *The International Mini-Symposium on Gastrointestinal Pharmacology – Tissue Injury, Protection and Healing. July 10, 2006. Kyoto, Japan, Program & Abstracts, p. 10. 2006.*

Lakner L., **Dömötör A.**, Tóth Cs., Meczker Á., Hajós R., Kereskai L., Szekeres Gy., Döbröntem Z., Mózsikm Gy.: Capsaicin-sensitive afferentation in *Helicobacter pylori* positive gastritis before and after eradication. *Z. Gastroenterol.* 2007; 45:434.

Előadások és poszterek

Peidl Zs., **Dömötör A.**, Karádi O., Szekeres Gy., Hideg K., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: Functional overtalk between the capsaicin-sensitive afferent and efferent vagal nerve during gastric mucosal protection produced by omeprazole and omeprazole-like compounds. *Magyar Gasztroenterológiai társaság 47. Nagygyűlése, Balatonaliga 2005.*

Mózsik G., Abdel-Salam O., **Dömötör A.**: Drug actions on the afferent and efferent fibres of the vagal nerve in the gastric mucosal protection: a molecular pharmacological approach. *Magyar Gasztroenterológiai társaság 48. Nagygyűlése, Szeged 2006.*

Dömötör A., Kereskai L., Hunyady B., Szolcsányi J., Szekeres G., Mózsik G.: Is there any specific role of the capsaicin-sensitive afferent nerves in the development of the human chronic gastritis with or without *Helicobacter pylori* infection? *Magyar Gasztroenterológiai társaság 48. Nagygyűlése, Szeged 2006.*

Egyéb közlemények

Mózsik Gy., Rumi Gy., **Dömötör A.**, Figler M., Gasztonyi B., Papp E., Pár A., Pár G., Belágyi J., Matus Z., Melegh B.: Involvement of serum retinoids and Leiden mutation in patients with esophageal, gastric, liver, pancreatic, and colorectal cancers in Hungary. *World J. Gastroenterol.* 11:7646-7650 (2005).

Független hivatkozás: 7 Összes hivatkozás: 11

Absztraktok

Rumi Gy., **Dömötör A.**, Figler M., Gasztonyi B., Pár A., Pár G., Mózsik Gy.: Increased Leiden mutation and decreased serum level of vitamin A and zeaxanthin in patients with oesophageal, gastric, liver, pancreatic and colorectal cancers *Gastroenterology* 126. Suppl. 2: A452 2004.

Peidl Zs., **Dömötör A.**, Karádi O., Szekeres Gy., Hideg K., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: Functional overtalk between the capsaicin-sensitive afferent and efferent vagal nerve during gastric mucosal protection produced by omeprazole and omeprazole-like compounds. *Z. Gastroenterol.* 43: 505, 2005.

Karádi O., **Dömötör A.**, Hideg K., Mózsik Gy.: The effects of omeprazole-like compounds on the gastric acid secretion and indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *Acta Pharmacol. Sinica. Suppl.1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China, p 243, 2006.*

Rumi Gy., **Dömötör A.**, Mózsik Gy.: Molecular interrelationships between the gastric mucosal protective effects produced by capsaicin and other drugs in rats. *Acta Pharmacol. Sinica. Suppl.1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology, July 2-7, 2006, Beijing, China. p 367, 2006.*

Dömötör A., Szolcsányi J., Mózsik Gy.: No changes in the acute and chronic gastric mucosal protective effects of capsaicin in healthy human subjects. *Acta Pharmacol Sinica Suppl.1. Abstracts of the 15th World Congress of Pharmacology. July 2-7, 2006, Beijing, China. p 237, 2006.*

Mózsik Gy., **Dömötör A.**, Rumi Gy.: Cytoprotective mechanisms of retinoids in rats, in healthy human subjects and in patients with different gastrointestinal disorders. *Digestion* 73 Suppl. 2. p 44, 2006.