

Tanulmányok

A 2021. ÉVI ORVOSI-ÉLETTANI NOBEL-DÍJJAL ELISMERT KUTATÁSOK ÉS AZOK MAGYAR ELŐZMÉNYEI

NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2021: THE HUNGARIAN CONTRIBUTION

Helyes Zsuzsanna¹, Sántha Péter², Pintér Erika¹, Pethő Gábor¹, Barthó Loránd³,
Dux Mária⁴, Jancsó Gábor⁵

¹az orvostudomány doktora, egyetemi tanár, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet és Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécs,
helyes.zsuzsanna@pte.hu

²PhD, egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem Élettani Intézet, Szeged

³az orvostudomány doktora, professor emeritus, Pécsi Tudományegyetem Általános Orvosi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet és Szentágotthai János Kutatóközpont

⁴az orvostudomány doktora, egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem Élettani Intézet

⁵az orvostudomány doktora, professor emeritus, Szegedi Tudományegyetem Élettani Intézet,
gaborjancso@yahoo.co.uk

ÖSSZEFOGLALÁS

A 2021. évi orvosi-élettani Nobel-díjjal David Julius amerikai és Ardem Patapoutian libanoni kutatók tudományos teljesítményét ismerték el a hőérzékelés és a tapintás molekuláris mechanizmusainak tisztázásáért. David Julius és munkatársai azonosították a kapszaicin és a fájdalommas hőingerek (> 43 °C) érzékeléséért felelős kapszaicin-tranziens receptorpotenciál vanilloid 1 (TRPV1)-receptort, amely elsősorban kalciumot áteresztő, nem specifikus kationcsatornának bizonyult. Későbbi vizsgálatokban tisztázták, hogy a TRPV1-receptor alapvető szerepet játszik a hő- és gyulladásos fájdalom, valamint – elsősorban neuropeptidok felszabadítása révén – a beidegzés helyén értágulat, plazmafehérje-kiáramlás, simaizom, mirigy és egyéb szöveti reakciók közvetítésében. Ardem Patapoutian és munkatársai vizsgálatai vezettek a tapintásérzékelésben szerepet játszó mechanoszenzitív ioncsatornák, a Piezo1- és Piezo2-receptorok felfedezéséhez. Kimutatták, hogy ezek meghatározó szerepet játszanak a zsigeri szervek mechanoszenzitív működéseiben is. Jelen közleményünkben rávilágítunk azokra a hazai kutatók által tett alapvető felfedezésekre, amelyek hozzájárultak a kapszaicin/TRPV1-receptor azonosításához, valamint a kapszaicinérzékeny kemoszenzitív afferens idegek fájdalomérző és számos zsigeri működésben játszott komplex szabályozó szerepének megismeréséhez.

ABSTRACT

David Julius and Ardem Patapoutian were jointly awarded the 2021 Nobel Prize in Physiology or Medicine for their discoveries of receptors for temperature and touch. David Julius and his colleagues identified the receptor sensitive to capsaicin and intense heat stimuli ($> 43\text{ }^{\circ}\text{C}$). This receptor termed the capsaicin or transient receptor potential vanilloid type 1 receptor (TRPV1) proved to be a non-selective cation channel with a high calcium permeability. It has been disclosed that the TRPV1 receptor is responsible for the mediation of heat and inflammatory pain, and by the release of neuropeptides, they are intimately involved in the mediation of local vascular, smooth muscle, secretory and other tissue reactions. Ardem Patapoutian's investigations have led to the discovery of the mechanosensitive ion channels Piezo1 and Piezo2 involved in the sensation of touch. The critical involvement of these receptors in mechanosensitive functions of visceral organs was revealed, too. In this article we also draw attention to seminal discoveries of Hungarian scientists, which significantly contributed to the cloning of the capsaicin/TRPV1 receptor, and the understanding of the role of capsaicin-sensitive afferents in the mechanisms of heat and chemical pain, as well as in a variety of visceral mechanisms.

Kulcsszavak: kapszaicin, hőérzékelés, fájdalom, tapintásérzés, mechanoszenzitív ioncsatornák

Keywords: capsaicin, temperature sensation, pain, touch, mechanosensitive ion channels



David Julius
(Fotó: Christopher Michel,
Wikimedia Commons,
CC-BY-SA-4.0 licenc)



Ardem Patapoutian
(Fotó: Christopher Michel,
Wikimedia Commons,
CC-BY-SA-4.0 licenc)

A 2021. évi orvosi-élettani Nobel-díjat David Julius amerikai és Ardem Patapoutian Amerikai Egyesült Államokban dolgozó libanoni kutatónak ítélte a Nobel-díj-bizottság a hő- és tapintásérzékelés receptorainak felfedezéséért. A „receptor” jelen esetben a hő- és tapintási ingerekre érzékeny molekulákra utal, amelyek

többféle kémiai ingerrel, például gyulladásoz mediátorokkal és exogén „irritáns” vegyületekkel is aktiválható specifikus ioncsatornákat jelentenek. A kitüntetett kutatók eredményei mind az emberi szervezet működésének megismerésére irányuló elképzelések több évszázados fejlődéstörténete, mind pedig a konkrét érzékelő funkciók molekuláris mechanizmusainak és az ezekben rejlő lehetőségek feltárása szempontjából alapvető jelentőségűek. Jelen munkánkban a Nobel-díjjal elismert felfedezéseket és azok, elsősorban a paprika csípős hatóanyaga, a kapszaicin egyedülálló farmakológiai hatásával kapcsolatos kutatások magyar vonatkozásait kívánjuk röviden összefoglalni.

KORAI MEGFIGYELÉSEK A KAPSAICIN SZELEKTÍV SZENZOROS IZGATÓ ÉS DESZENZIBILIZÁLÓ HATÁSÁIRÓL

Descartes a meleg ingerek érzékelésére vonatkozó korai mechanisztikus elképzelését bemutató ikonikus illusztrációja mind a mai napig a témával foglalkozó tanulmányok elmaradhatatlan részét képezi, beleértve a szóban forgó Nobel-díj indoklását is. Az ezt követő több mint háromszáz évben számos kiemelkedő kutató foglalkozott az érzékelés, specifikusan a bőr és a zsigerek érző működéseinek vizsgálatával. Az idegtudomány olyan korszakalkotó képviselői járultak hozzá e tudományterület fejlődéséhez, mint Johannes Müller, Maximilian von Frey, Hermann Helmholtz, Charles Scott Sherrington, Edgar Adrian, John Newport Langley, Henry Head, Santiago Ramón y Cajal és Szentágothai János. A múlt század 70-es éveire általánosan elfogadottá vált nézet szerint a bőrt és a zsigereket érő ingereket az elsődleges érző neuronok perifériás végződéseinek modalitás-specifikus receptorai érzékelik, majd a keletkező ingerületet továbbítják a központi idegrendszer felé. Az érző neuronok és receptoraik mű-



1. ábra. René Descartes *Traite de l'homme*, 1664
(Wikimedia Commons, Közkincs)

ködését morfológiai, funkcionális és elektrofiziológiai módszerekkel vizsgálva megállapították, hogy a mechanikai (tapintás, érintés), termális (hideg, meleg) és fájdalmas ingereket specifikus mechano-, hő- és fájdalomreceptorok érzékelik.

Az egyes érzéskvalitásokat közvetítő receptorok működési mechanizmusaira vonatkozó ismereteink azonban az 1950-es évekig meglehetősen hiányosak voltak. Ifjabb Jancsó Miklós vizsgálatai mutattak rá elsőként, hogy egyes szenzoros receptorok működése farmakológiai úton szelektíven befolyásolható. A MÉT 1949. évi kongresszusán számolt be először arról, hogy „[b]izonyos anyagok eddig ismeretlen módon hatnak az érző idegvégződésekre, ugyanis azokat deszenzibilizálni képesek kémiai ingerekkel szemben, anélkül, hogy valódi helyi érzéstelességet okoznának. A deszenzibilizáció állapotára jellemző az, hogy ugyanakkor, mikor fizikai úton az illető érző idegvégzések által közvetített reflexek (cornea reflex, tüsszentési reflex stb.) prompt kiválthatók, bizonyos kémiai anyagok izgató hatásával szemben a deszenzibilizált érző terület majdnem, vagy teljesen érzéketlen. Ilyen deszenzibilizáló anyag a capsaicin, melynek hatása napokig tart és kémiailag nem specifikus jellegű. Ha tengerimalac vagy patkány szemébe többször egymásután capsaicin-oldatot cseppentünk, az fokozatosan deszenzibilizálódik úgy, hogy végül már egyáltalán nem érzi ennek az anyagnak az izgató hatását. Az így kezelt szemek más nagy hatású izgató és könnyfakasztó anyagokkal szemben is refracter módon viselkednek: a sensibilitás több mint ezerszeresen csökkenhet. Ismételt kezeléssel a bőr- és légzőutak érzőidegvégzéseit is sikerült deszenzibilizálni.” (Jancsó–Jancsó Gábor, 1949, előadás-összefoglaló) Kimutatták, hogy az érző idegvégzések nemcsak a fájdalmas és a hőingerek közvetítésében játszanak szerepet, hanem ingerületi állapotukban mediátoryanyag(ok) felszabadítása révén szerepet játszanak az innervált szövetek (neurogén) gyulladási reakcióinak kiváltásában is. Ifj. Jancsó Miklós a neurogén gyulladás mechanizmusára vonatkozóan új elképzelést vázolt fel, amelyet állatkísérletekkel és humán vizsgálatokkal is bizonyított: ugyanazon érző idegvégződés mind a (fájdalmas) ingerek felvételére, mind pedig gyulladáskeltő (vazoaktív) ágensek felszabadítására képes, azaz kettős funkcióval rendelkezik, amelyet a kapszaicin deszenzibilizáció szelektíven gátol (Jancsó, 1955, 1968). Elektrofiziológiai vizsgálatokban megállapították, hogy a kapszaicin szelektíven a C-rost afferenseket aktiválja. További vizsgálataik bizonyítékot szolgáltatottak a kapszaicin perifériás és centrális (hipotalamikus) melegérző receptorokra kifejtett izgató (hőcsökentő) és deszenzibilizáló (a melegérzést gátló) hatására vonatkozóan is (Jancsó, 1955; Jancsó–Jancsó–Gábor, 1965).

Az eredményekből Jancsó Miklós azt a következtetést vonta le, hogy a kapszaicin egyedülálló szenzoros neuronblokkoló hatású hatóanyag, amely rendkívül szelektív módon függeszti fel a neurogén gyulladást, valamint a melegérzést és a kémiai fájdalomérzést, míg a mechanikai ingerek érzékelését érintetlenül hagyja.

Megfigyelései alapján arra következtetett, hogy az érző idegvégződéseket a kémiai és mechanikai ingerek két különböző receptormechanizmus útján hozzák ingerületbe. Megjegyezte: „elképzelték, hogy a mechanoszenzitív idegvégzésekben piezoelektromos struktúrák vannak jelen” (Jancsó, 1955). Ezek az eredmények és az a koncepció, hogy a kapszaicinérzékeny érző idegvégzésekben gyulladáshozó jelenségeket létrehozó ingerületátvivő anyag (később: anyagok) szabadulhat(nak) fel, a *British Journal of Pharmacology* hasábjain megjelent dolgozatban vált a legszélesebb nemzetközi olvasótábor számára elérhetővé (Jancsó et al., 1968). Többek közt, kvantitatív eredményeket is fölmutatva, leírták a krónikus érző denerváció gátló hatását a neurogén gyulladáshozó jelenségekre, továbbá bizonyították, hogy az érző idegvégzések mediátorkibocsátása nem érzékeny helyi érzéstelenítőkre (később: Na-csatornablokkolókra). A kapszaicin hőregulációval kapcsolatos további hatásainak leírása 1970-ben a szintén igen jó nevű *Journal of Physiology* (London) folyóiratban jelent meg. Megjegyzendő, hogy a hipotalamikus hőérzékelő rendszer kapszaicinérzékenysége később (a TRPV1-antagonisták kapcsán) gyógyszerfejlesztési szempontból zavaró következményekkel járt (lásd később ebben az írásban).

A KAPSAZICINÉRZÉKENY NEURONOK MORFOLÓGIAI ÉS FUNKCIONÁLIS JELLEMZÉSE

A kapszaicinszenzitív elsődleges érző neuronrendszer direkt morfológiai azonosítását a kapszaicin szelektív neurotoxikus hatásának felfedezése tette lehetővé. Jancsó Gábor és munkatársai kimutatták, hogy újszülött állatokban a kapszaicin az érző ganglionsejtek egy morfológiailag jól definiálható populációjának, a kis, B-típusú neuronoknak szelektív degenerációját hozza létre (Jancsó et al., 1977). Kimutatták, hogy az érző ganglionsejtekben a kapszaicin adását igen jelentős kalciumbeáramlás kíséri (Jancsó et al., 1984). A kapszaicinnal kezelt állatok életre szólóan érzéketlenné váltak a kémiai irritánsok fájdalom- és gyulladáshozó hatásával szemben. Ezen új kísérleti paradigma első ízben nyújtott lehetőséget a nociceptív (fájdalomérző) primer afferensek központi idegrendszeri megoszlásának kimutatására és neurokémiai jellemzésére. Immunhisztokémiai vizsgálatokkal bizonyították a P-anyag és a szomatosztatin előfordulását és lehetséges transzmitter szerepét a nociceptív érző neuronokban (Jancsó et al., 1981). Kimutatták, hogy a kapszaicin nemcsak az érző idegvégzésekben hat, hanem direkt axonális hatással is rendelkezik, ami lehetővé tette egy adott perifériás vagy agyidegben futó nociceptív kapszaicinszenzitív afferensek funkciójának szelektív és tartós gátlását. Ebben szerepet játszhat a kapszaicin axonális transzportot gátló hatása is. Ezen eredmények alapján először merült fel a kapszaicin lehetséges terápiás alkalmazása (Jancsó et al.,

1980). Ezek a megfigyelések és kísérleti módszerek a fájdalomérzés és a kapszaicinszenzitív afferensek kettős funkciójának feltárásában alapvető szerepet játszottak. A „lokális efferens” funkció viszcerális területen is kimutathatónak bizonyult (Szolcsányi–Barthó, 1978, lásd továbbá számos ezt követő munka házánykából és más országokból).

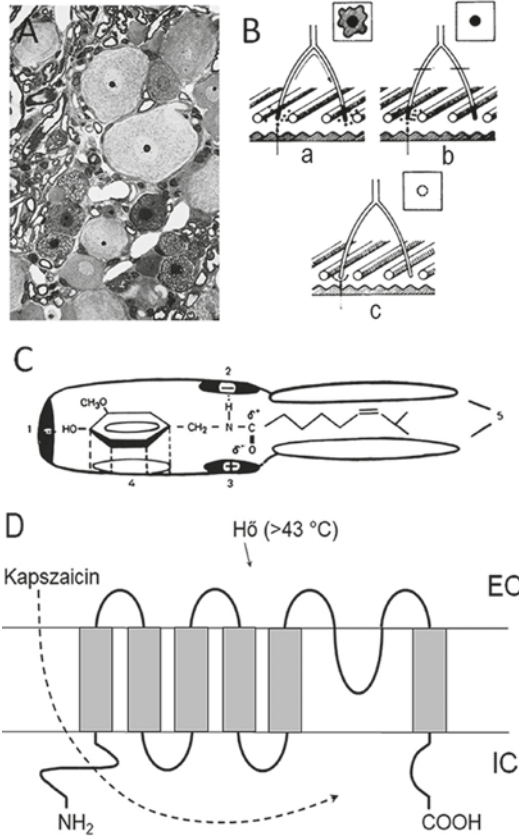
A neurogén gyulladás jelensége és a kapszaicin szerepe mint potenciális szelektív farmakológiai eszköz a perifériás szenzoros idegrendszer kutatásában sokáig nem keltette fel a neurofiziológusok érdeklődését. A hetvenes évek végén azonban a szenzoros neuropeptidok, elsősorban a P-anyag (substance P) neurogén gyulladásban kifejtett szerepének felfedezésével új korszak kezdődött a kapszaicinkutatások történetében. Bár néhány korai adat alapján feltételezhető volt, hogy a kapszaicin felszabadítja a P-anyagot a gerincvelő hátsó szarvában, az első bizonyító erejű közleményt Thomas Jessell, Les Iversen és Augusto Claudio Cuello publikálták a *Brain Research*-ben 1978-ban, mely szerint a kapszaicin depletálja a P-anyagot a primer szenzoros neuronokból (Jessell et al., 1978). E felfedezést követően Fred Lembeck és Peter Holzer kimutatták, hogy a neurogén plazma extravazációt a kapszacinérzékeny idegvégződésekben felszabaduló P-anyag mediálja. Ezután a megélenkült érdeklődés eredményeképpen számos adatot publikáltak a neuropeptidok szintézisére, tárolására, felszabadulására, centrális és perifériás hatásaira vonatkozóan.

A kapszaicin szelektív hatásának bizonyítása egy alapvetően új, a klasszikus idegszabályozási elmélettől eltérő, szenzoros-effektor funkciójú idegrendszer felfedezéséhez vezetett (Szolcsányi, 1996). A kapszaicinerzékeny idegvégződések hármas funkcióval rendelkeznek. A klasszikus élettani jelentőségük a fájdalomingernek feldolgozása és a keletkező ingerület továbbítása a központi idegrendszerbe. Ebben a folyamatban fő szerepet játszik a nátriumbeáramlás, amely elindítja az akciós potenciált (afferens funkció). A nem szelektív kationcsatornán át kalcium is beáramlik, amely a neuropeptid tartalmú vezikulák exocytosisához vezet. A felszabaduló gyulladáskeltő neuropeptidok (P-anyag, neurokininek, kalcitonin génrokon peptid) lokális neurogén gyulladást, azaz vazodilatációt, plazma extravazációt és a gyulladást okozó sejtek akkumulációját okozzák (lokális efferens hatás). Patkányon végzett kísérletekben, átvágott lumboszakrális hátsógyökerek antidrómos elektromos ingerlése szisztémás gyulladásgátló hatást okozott. Ez a jelenség kapszaicinnal történő deszenzibilizáció után nem jött létre (Pintér–Szolcsányi, 1996). Ez volt az első bizonyíték annak, hogy a gyulladáskeltő anyagok mellett, a kapszaicinreceptor stimulációja gyulladásgátló mediátorok felszabadulását is kiváltja, melyek a keringésbe jutva szisztémás hatást tudnak kifejteni. Ezek a gyulladásgátló neuropeptidok (szomatosztatin, opioid peptidok, galanin, PACAP) képezhetik az endogén fájdalomcsillapító-gyulladásgátló rendszer mediátor hátterét a periférián (szenzokrin funkció) (Pintér et al., 2006; Szolcsányi et al., 2011).

A KAPSAICINRECEPTOR AZONOSÍTÁSA ÉS SAJÁTÓSÁGAI

„Klasszikus” módszerekkel, azaz szerkezeti kapszaicinanalógok érző idegeket izgató és deszenzibilizáló hatásainak vizsgálatával Szolcsányi János és Jancsó-Gábor Aranka bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy ezek a hatások specifikus receptorokon keresztül jönnek létre. Ezt a megállapítást arra alapozták, hogy kis szerkezeti változás nagymértékben módosíthatja a hatásokat, a molekula nélkülözhetetlen részei meghatározhatók. Az eredmények és a hipotézis két dolgozatban jelent meg 1975-ben és 1976-ban (angolul, a kétnyelvű *Arzneimittel-Forschung / Drug Research* folyóiratban). Az utóbbi közleményben a feltételezett kapszaicinreceptor sémás ábrája is megtalálható (Szolcsányi–Jancsó-Gábor, 1976). Szállási Árpád és Peter M. Blumberg alapvető megfigyelése, miszerint az érző ganglionsejtek membránja nagy affinitással köti a reziniferatoxint, egy ultrapotens kapszaicin analógot (Szállási–Blumberg, 1990), direkt bizonyítékot szolgáltatott a feltételezett kapszaicinreceptor létezésére vonatkozóan.

David Julius és munkatársai funkcionális vizsgálati stratégiát alkalmaztak a kapszaicinreceptort kódoló cDNS-klónok izolálására (Caterina et al., 1997). Em-lőssejt expressziós klónozási stratégiájukat arra alapozták, hogy érző neuronokban a kapszaicin robusztus kalciumbeáramlást okoz. Feltételezték, hogy a kapszaicinreceptort kódoló cDNS-t nem neuronális sejtekbe transzfektálva kapszaicin hatására azok is kalciumakkumulációval válaszolnak, és ezáltal azonosíthatók. Ezért patkány és eger érző ganglionokból, amelyek nagy mennyiségben expresszálják a feltételezett (receptor)fehérjét, mRNS-t izoláltak, amelyből cDNS-könyvtárat állítottak elő. Ezt a könyvtárat kb. 16 000 klónt tartalmazó alkönyvtárakba osztották, amelyekkel humán embrionális vesehámsejteket (HEK293) transzfektáltak, ezeket kalciumszenzitív Fura-2 fluoreszcens festékkel inkubálták, az intracelluláris kalciumszint változását fluoreszcens mikroszkóppal vizsgálták. A pozitív klónokat tartalmazó alkönyvtárakat újra alkönyvtárakba osztották, és újra tesztelték. Ezt a ciklust többször ismételve végül egy VR1-klónnak nevezett 3 kilobázispár hosszú DNS-szekvenciát azonosítottak. A szekvencia egy 838 aminosav hosszúságú, 95 kDa molekulatömegű fehérjét kódol, amely N- és C-terminusa egy-egy hosszabb intracelluláris, valamint hat transzmembrán domént tartalmaz. A fehérje az 5. és a 6. transzmembrán domén között egy rövid hidrofób szekvenciát tartalmaz, amelyről feltételezték, hogy a csatorna pórusrégiójához tartozik. Fehérje-adatbázisokban végzett homológiavizsgálatok szerint a klónozott fehérje jelentős strukturális hasonlóságot mutatott a korábban *Drosophilából* izolált tranziens receptorpotenciál (TRP) receptormolekulákkal. Később számos TRP-receptort azonosítottak, és a VR1-receptort TRP vanilloid 1-es típusú (TRPV1) receptornak/ioncsatornának nevezték el.



2. ábra. A. Kis, B-típusú nociceptív ganglionsejtek kapszaicin által kiváltott szelektív degenerációja patkány spinális érződúcában (Jancsó Gábor anyagából)

B. Jancsó Miklós magyarázata az érző idegvégződések által létrehozott érreakciókról (lásd kis négyzetek) bőrben

Az ingerlés helyét fölfelé irányuló nyilak jelzik. *a)* Ép érző beidegzés mellett mind az inger, mind az elágazó ágak (kollaterálisok) végződése helyén értágulat és más gyulladásos jelenségek lépnek föl („vörös udvar”; „flare”, axonreflex); ingerlés hatására az érző idegvégződések minden kollaterálisa képes vazoaktív „neurohumor” felszabadítására. *b)* Helyi érzéstelenítés után (áthúzás) csak az inzultus helyén lép fel kisebb reakció; az axonreflex gátlódik. Maga az ingerelt idegvégződés nem gátható helyi érzéstelenítővel. *c)* Kapszaicin-deszenzibilizáció után az egész válasz elmarad; a kezelés minden végződésből meggátolja a mediátorfelszabadulást (Jancsó et al., 1968 nyomán)

C. Az 1970-es években született elgondolás a „kapszaicinreceptorról”, a kapszaicinmolekula és a receptoraktiválás szempontjából kritikus részeinek föltüntetésével (Szolcsányi– Jancsó-Gábor, 1976 nyomán)

D. A ma ismert TRPV1 sematikus ábrázolása. A kapszaicin támadáspontja a TRPV1 belső részén van. EC, IC: a sejtmembrán extra-, illetve intracelluláris oldala. Szürke: a receptor „transzmembrán doménjei” (saját szerkesztés)

További vizsgálataikban összehasonlították a klónozott VR1-receptor tulajdonságait a natív, érző ganglionsejtek által expresszált receptorról. Ezért a VR1-receptort *Xenopus laevis* petesejtekben expresszáltatták. Csakúgy, mint az érző ganglionsejtekben, a kapszaicin és a reziniferatoxin befelé irányuló áramot indukált, a klónozott és a természetes receptorok kapszaicin- és reziniferatoxin érzékenysége és EC50 értéke hasonlóan adódott. A Hill-koefficiens értékek arra utaltak, hogy a receptor teljes aktiválódásához több agonista molekula kötődése szükséges, akár csak a natív receptor esetében. A petesejtben expresszált receptor aktiválódását, hasonlóan a natív receptorhoz, a kompetitív kapszaicinreceptor antagonistáknak kapszazepin és a nem kompetitív antagonistáknak ruténium vörös egyaránt gátolta.

A klónozott VR1-receptor természetes anyagokkal történő aktiválhatóságát különböző csípősségű paprikafajták alkoholos extraktumaival vizsgálták. Megállapították, hogy a különböző extraktumok (a szubjektív Scoville-féle skálán meghatározott) csípősségükkel arányosan aktiválják a VR1-receptort, amely nem volt érzékeny egyéb fájdalomkeltő kémiai irritánsokkal szemben, mint az ATP, szerotonin, acetilkolin, bradykinin, P-anyag, hisztamin, glutamát vagy hipertóniás sóoldat.

A klónozott VR1-receptor elektrofiziológiai tulajdonságainak vizsgálata VR1-transzfektált HEK293-sejteken teljes sejt feszültségzár technikát alkalmazva feltárta, hogy a kapszaicin robusztus befelé irányuló áramot indukál, amely ismételt expozíciókat követően jelentősen csökken. Mivel a kapszaicinindukálta válasz fordulási potenciálja közel volt 0 mV-hoz, a válasz kationszelektív csatornának megnyílásával magyarázható. Jellemző a kapszaicinindukálta válaszra, hogy kapszaicin folyamatos jelenlétében gyorsan deszenzibilizálódik, hasonlóan, mint az érző ganglionsejtekben. A deszenzibilizáció extracelluláris kalcium hiányában nem vagy csak mérsékelten alakul ki. Lényegében hasonló elektrofiziológiai tulajdonságokat mutattak a VR1-transzfektált HEK293-sejtek membránján végzett egycsatorna aktivitást vizsgáló mérések is. Megállapították továbbá, hogy a kapszaicin kötőhelye a sejtmembrán belső oldalán helyezkedhet el.

A nociceptív érző neuronokra kifejtett neurotoxikus hatás a kapszaicin egyik legpregnánssabb hatása. VR1-transzfektált sejteken kimutatták, hogy a kapszaicin a natív érző neuronokhoz hasonlóan masszív kalciumakkumulációt és (következményes) sejthalált idéz elő (Caterina et al., 1997).

A VR1-transzkriptumok northern blot analízise és VR1 mRNS szöveti megoszlásának *in situ* hibridizációs technikával végzett vizsgálata során megállapították, hogy a VR1 specifikusan expresszálódik a kis és közepes méretű trigeminális és spinális érző ganglionsejtekben, ami megegyezik a korábban identifikált kapszaicinszenzitív neuronok méretével.

A VR1-transzfektált HEK293-sejtek és *Xenopus* oocyták meleg és intenzív (fájdalmas) hőingerekkel történő tesztelése során megállapították, hogy a sejtek fokozott kalciumakkumulációval és befelé irányuló, kifelé rektifikáló árammal

válaszolnak az intenzív (~45 °C) hőingerekre, de nem érzékenyek a nem fájdalmas hőingerekre. Ezeket a válaszokat, hasonlóan a kapszaicinindukálta válaszokhoz, a ruténium vörös gátolta. Az eredmények arra utaltak, hogy a VR1-ioncsatorna szerepet játszik az intenzív (fájdalmas, ~45 °C) hőingerek közvetítésében. Ezt alátámasztják azon eredmények, amelyek szerint az elsődleges érző idegsejtek azon csoportja, amely kapszaicinnal aktiválható, tehát VR1-et expresszál, hasonló ionáramokkal válaszol a kapszaicinnra, mint a fájdalmas intenzitású hőingerekre, illetve a kétféle ingerre reagáló idegsejtek nagyon jelentős átfedést mutatnak. Ennek a megállapításnak az ad különös jelentőséget, hogy a VR1-ioncsatorna volt az első azonosított melegszenzitív ioncsatorna a hőérzékeny TRP-csatornák közül. Ezek közé tartozik a hidegszenzitív TRPM8-receptor, amit David Julius és Ardem Patapoutian egymástól függetlenül írt le.

További vizsgálatokban a VR1-receptor lehetséges endogén aktivátorai után kutatva megvizsgálták a csatorna protonok általi aktiválhatóságát. Ismeretes, hogy fertőzés, szöveti iszkémia és gyulladási folyamatok a szöveti pH-t savas irányba tolják el. Kimutatták, hogy a protonkoncentráció emelkedése önmagában kevéssé befolyásolja a csatorna funkcióját, de jelentősen potenciózza a szubmaximális kapszaicinkoncentrációk által kiváltott válaszokat.

A kapszaicin/VR1/TRPV1-ioncsatorna hő- és fájdalomérzés molekuláris receptoraként történt azonosítása új perspektívákat nyitott a fájdalomérzés farmakológiai befolyásolásának lehetőségei tekintetében is. Egyrészt, a receptor agonistái a TRPV1-receptor és/vagy a nociceptív afferens idegek működésének felfüggesztése révén gátolják a fájdalomérzést. Kimutatták, hogy mind a kapszaicin (Jancsó et al., 1980), mind pedig a resiniferatoxin perineurális alkalmazása gátolja a kémiai irritánsok és az intenzív melegingerek által kiváltott fájdalmat. Meglepő módon, patkányban és egérben a TRPV1 farmakológiai blokkolása vagy genetikai delécioja nem károsítja a forró ingerekkel szembeni érzékenységet alaphelyzetben, ugyanakkor a gyulladási és idegkárosodáson alapuló termális hiperalgézia modellekben jelentős antinociceptív hatással bír. Mindezek alapján intenzív gyógyszerfejlesztés kezdődött a TRPV1-antagonisták mint új típusú, periférián ható fájdalomcsillapítók irányába. Sajnálatos és előre nem látható módon az eddig kifejlesztett vegyületek emberben – szemben a vizsgált állatokkal – károsítják a forró ingerek detektálását, és megemelik a testhőmérsékletet, ami klinikai alkalmazásukat mindeddig megakadályozta. Némi optimizmusra adhat okot, hogy néhány újabb TRPV1-antagonista esetében a hipertermiát sikerült kiküszöbölni. A TRPV1-receptort expresszáló nociceptív érző neuronok működését befolyásoló új típusú (agonista és antagonist) vegyületek kutatása továbbra is a fájdalomkutatás és gyógyszerfejlesztés ígéretes területe.

A magyar tudósok „kapszaicin kutatásai” alapvetően hozzájárultak David Julius Nobel-díjjal elismert eredményeihez. Ezt alátámasztja az is, hogy Julius

professzor a kapszaicint a fájdalomkutatás Szent Gráljának nevezte, hangsúlyozva ennek a molekulának az egyedülálló szerepét a fájdalomkutatásban és a TRPV1-receptor azonosításában. Nobel-előadásában Julius professzor, akit 2011-ben a Magyar Tudományos Akadémia tiszteletbeli tagjává választott, kiemelten hivatkozott a magyar kutatók eredményeire (URL1).

A MECHANOSZENZITÍV PIEZOCSATORNÁK ÉS EGYÉB TRP-RECEPTOROK FELFEDEZÉSE

A hő- és kémiai irritánsokra érzékeny TRP-csatornák, a TRPM8- és a TRPA1-receptorok azonosításában már vezető szerepet játszott Ardem Patapoutian azt az ambiciózus célt tűzte ki, hogy a már többször sikeresen alkalmazott modern technikákat a szenzoros receptormolekulák új típusa, a mechanoszenzitív ioncsatornák vizsgálatára használja fel. A siker eléréséhez munkacsoportjának több akadályt kellett leküzdenie. Az egyik technikai akadály az egysejt elektrofiziológiai vizsgálattal párhuzamosan végzett megfelelő mechanikai stimuláció biztosítása volt. Ebben kulcsszerepet játszott a munkatársa, Bertrand Coste által kifejlesztett piezoelektromos ingerlő (aktuátor) (Coste et al., 2010). Másrészt, a funkcionális klónozás korábban használt technikái nem tették lehetővé igen nagy méretű fehérjék azonosítását, azonban a technológiai fejlődés, az RNS-interferencián alapuló géncsendesítés (silencing) és a bioinformatika fejlődése elhárította ezt az akadályt is. A mechanikai érzékenységet mutató emlős sejtvonalak elektrofiziológiai tulajdonságainak vizsgálatát követően, szerencsés választásuk a Neuro2A-neuroblasztóma sejtvonala esett (Coste et al., 2010). A sejtvonalból izolált mRNS-könyvtárból fehérjeadatbázisok felhasználásával jelölték ki olyan potenciális membránfehérjéket, amelyekről feltételezték, hogy ismeretlen funkciójú ioncsatornák lehetnek. A kijelölt közel nyolcvan szekvencia alapján készített specifikus siRNS-eket alkalmazva a neuroblasztóma sejtvonalon egyenként tesztelték a célzott mRNS-csökkentés hatását a sejtek mechanikailag aktivált ionáramaira. A VR1/TRPV1-receptorral ellentétben a kutatók ebben az esetben kevésbé voltak szerencsések, hiszen csak az utolsó siRNS esetében tapasztalták, hogy a célzott csendesítés jelentősen csökkentette a sejtek mechanikai válaszkészségét. Ez mutatott rá arra, hogy a korábban ismeretlen funkciójú Fam38A-fehérje valójában egy mechanoszenzitív ioncsatorna. A funkció ismeretében a fehérjét piezo1-receptornak nevezték el a görög 'piesi', 'nyomás' szóra utalva. A strukturálisan rokon Fam38B-fehérjéről szintén igazolták, hogy az egy mechanikai ingerekkel aktiválható ioncsatorna, amit piezo2-receptornak neveztek el. Mindkét ioncsatornára jellemző a mechanikai ingerre bekövetkező gyorsan aktiválódó és inaktíválódó ionáram, amelynek mértéke függ a mechanikai inger intenzitásától. A piezoreceptorok

az állatvilágban általános konzervált nagy méretű (2750 AA) fehérjék, amelyek nagy számú (szerkezetvizsgálatok szerint legalább huszonnegy) transzmembrán doménnel rendelkeznek. A további vizsgálatok igazolták, hogy a sejtek membránjában három, propellerlapát-szerűen elhelyezkedő alegység képez egy funkcionális csatornát, amelyet a membránt érő mechanikai behatásokra (feszülés, deformáció) kialakuló konformációváltozások aktiválnak (Saotome et al., 2018). Igazolták továbbá, hogy a piezo2-receptorok főleg az érző idegdúcok neuronjainak egy jól definiált populációjában expresszálódnak. Patapoutian és munkatársai igazolták a piezo2-receptor szerepét a mechanikai ingerek szenzoros transzdukciós folyamataiban a bőr nyomás- és tapintásérző (mechanoszenzitív) érző neuronjaiban és a Merkel-sejtekben, továbbá a vázizom proprioceptoraiban (Ranade et al., 2014). A piezoreceptorok szerepe azonban nem korlátozódik a szomatoszenzoros rendszerre: jelentőségük igazolódott a légzési és a keringési rendszer működését szabályozó idegi reflexek zsigeri afferenseinek működésében, valamint sok egyéb sejtfeleség mellett a vörös vértestek térfogatát szabályozó celluláris mechanizmusokban is.

KÖVETKEZTETÉSEK

A fentiekből egyértelműen látszik, hogy a kapszaicin/TRPV1-témakör magyar indíttatású. Az említettekén kívül több magyar kutató foglalkozott rövidebb-hosszabb ideig ezzel a témával; munkájuk néhány érdekes megfigyelésre vezetett, amelyek tematikájukban eltértek a jelen áttekintő közleményben ismertetett vizsgálatoktól. A kapszaicin nagy szelektivitású, szenzoros izgató és deszenzibilizáló hatásának felfedezése, utóbbi kapcsán a neurotoxikus hatásának feltárása jelentős mértékben hozzájárult a téma meggyökerezéséhez és nemzetközivé válásához. A kapszaicinérzékeny érző neuron kategória azonosítása és a peptiderg (peptideket kibocsátó) alcsoportjához kapcsolódó hármas funkció felfedezése szabályozási szempontból koncepcionális áttörést jelent. A felszabaduló ingerületátvivő anyagok befolyásolása szintén élenken kutatott terület ma is. A kapszaicinreceptor létezésének 1975-ös bizonyítása a 2021-es orvosi-élettani Nobel-díj legkorábbi közvetlen előzményének tekinthető. Gyógyszerfejlesztési szempontból kiemelendő, hogy a TRPV1-receptor izgatása már a mindennapi klinikai gyakorlatban használt analgetikumok hatás módja, ugyanakkor a TRPV1-blokkolás farmakoterápiai kiaknázhatóságának vizsgálata még folyamatban van.

IRODALOM

- Caterina, M. J. – Schumacher, M. A. – Tominaga, M. et al. (1997): The Capsaicin Receptor: A Heat-activated Ion Channel in the Pain Pathway. *Nature*, 389, 6653, 816–824. DOI: 10.1038/39807
- Coste, B. – Mathur, J. – Schmidt, M. et al. (2010): Piezo1 and Piezo2 Are Essential Components of Distinct Mechanically Activated Cation Channels. *Science*, 330, 6000, 55–60. DOI: 10.1126/science.1193270, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3062430/>
- Jancsó G. – Hökfelt, T. – Lundberg, J. M. et al. (1981): Immunohistochemical Studies on the Effect of Capsaicin on Spinal and Medullary Peptide and Monoamine Neurons Using Antisera to Substance-P, Gastrin-CCK, Somatostatin, VIP, Enkephalin, Neurotensin and 5-Hydroxytryptamine. *Journal of Neurocytology*, 10, 6, 963–980. DOI: 10.1007/BF01258524
- Jancsó G. – Karcsú S. – Király E. et al. (1984): Neurotoxin Induced Nerve Cell Degeneration: Possible Involvement of Calcium. *Brain Research*, 295, 2, 211–216. DOI: 10.1016/0006-8993(84)90969-7
- Jancsó G. – Király E. – Jancsó-Gábor A. (1977): Pharmacologically Induced Selective Degeneration of Chemosensitive Primary Sensory Neurones. *Nature*, 270, 5639, 741–743. DOI: 10.1038/270741a0
- Jancsó G. – Király E. – Jancsó-Gábor A. (1980): Direct Evidence for an Axonal Site of Action of Capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 313, 1, 91–94. DOI: 10.1007/BF00505809
- Jancsó N. (1955): *Speicherung. Stoffanreicherung im Retikuloendothel und in der Niere*. Budapest: Akadémiai Kiadó
- Jancsó N. (1968): Desensitization with Capsaicin as a Tool for Studying the Function of Pain Receptors. In: Lim, R. K. S. (ed.): *Proceedings of the 3rd International Pharmacological Meeting July 24–30, 1966*. Vol. 9. Oxford: Pergamon Press, 33–55.
- Jancsó N. – Jancsó-Gábor A. (1965): Die Wirkungen des Capsaicins auf die hypothalamischen Thermorezeptoren. *Naunyn-Schmiedebergs Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 251, 136–137. DOI: 10.1007/BF00420106
- Jancsó N. – Jancsó-Gábor A. (1949): Érzőidegvégződések deszenzibilizálása. *Kísérletes Orvostudomány*, 2, Suppl. S., 15.
- Jancsó N. – Jancsó-Gábor A. – Szolcsányi J. (1968): The Role of Sensory Nerve Endings in Neurogenic Inflammation Induced in Human Skin and in the Eye and Paw of the Rat. *British Journal Pharmacology and Chemotherapy*, 33, 1, 32–41. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1968.tb00471.x
- Jessell, T. M. – Iversen, L. L. – Cuello, A. C. (1978): Capsaicin-induced Depletion of Substance P from Primary Sensory Neurones. *Brain Research*, 152, 1, 183–188. DOI: 10.1016/0006-8993(78)90146-4
- Pintér E. – Helyes Z. – Szolcsányi J. (2006): Inhibitory Effect of Somatostatin on Inflammation and Nociception. *Pharmacology & Therapeutics*, 112, 2, 440–456. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.04.010
- Pintér E. – Szolcsányi J. (1996): Systemic Anti-Inflammatory Effect Induced by Antidromic Stimulation of the Dorsal Roots in the Rat. *Neuroscience Letters*, 212, 1, 33–36. DOI: 10.1016/0304-3940(96)12766-X
- Ranade, S. S. – Woo, S. H. – Dubin, A. E. et al. (2014): Piezo2 Is the Major Transducer of Mechanical Forces for Touch Sensation in Mice. *Nature*, 516, 7529, 121–125. DOI: 10.1038/nature13980
- Saotome, K. – Murthy, S. E. – Kefauver, J. M. et al. (2018): Structure of the Mechanically Activated Ion Channel Piezo1. *Nature*, 554, 7693, 481–486. DOI: 10.1038/nature25453

- Szállási A. – Blumberg, P. M. (1990): Specific Binding of Resiniferatoxin, an Ultrapotent Capsaicin Analog, by Dorsal Root Ganglion Membranes. *Brain Research*, 524, 1, 106–111. DOI: 10.1016/0006-8993(90)90498-Z
- Szolcsányi J. (1996): Capsaicin-sensitive Sensory Nerve Terminals with Local and Systemic Efferent Functions: Facts and Scopes of an Unorthodox Neuroregulatory Mechanism. *Progress in Brain Research*, 113, 343–359. DOI: 10.1016/s0079-6123(08)61097-3
- Szolcsányi J. – Barthó L. (1978): New Type of Nerve-mediated Cholinergic Contractions of the Guinea-pig Small Intestine and Its Selective Blockade by Capsaicin. *Naunyn Schmiedeberg's Archive Pharmacology*, 305, 1, 83–90. DOI: 10.1007/BF00497009
- Szolcsányi J. – Jancsó-Gábor A. (1976): Sensory Effects of Capsaicin Congeners. Part II: Importance of Chemical Structure and Pungency in Desensitizing Activity of Capsaicin-type Compounds. *Arzneimittelforschung / Drug Research*, 26, 1, 33–37.
- Szolcsányi J. – Pintér E. – Helyes Z. et al. (2011): Inhibition of the Function of TRPV1-Expressing Nociceptive Sensory Neurons by Somatostatin 4 Receptor Agonism: Mechanism and Therapeutical Implications. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11, 17, 2253–2263. DOI: 10.2174/156802611796904852, <https://bit.ly/3LizJZo>

URL1: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2021/advanced-information/>