A TRP CSATORNÁK ÉS A SZENZOROS NEUROPEPTIDEK SZEREPE AZ ORRNYÁLKAHÁRTYA GYULLADÁSOS MEGBETEGEDÉSEIBEN

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

DR. TÓTH ESZTER

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Neurofarmakológia Program
Doktori Iskola és Programvezető: Prof. Dr. Pintér Erika
Témavezető: Prof. Dr. Pintér Erika és Prof. Dr. Gerlinger Imre

2018

Rövidítések jegyzéke

ARS: acute rhinosinusitis, (rhinosinusitis acuta)

CRS: chronic rhinosinusitis, (rhinosinusitis chronica)

PG: prosztaglandin

LT: leukotrién

AFRS: allergic fungal rhinosinusitis, (allergiás gombás rhinosinusitis)

EFRS: eosinofil fungal rhinosinusitis, (eozinofil gombás rhinosinusitis)

CRSwNP: chronic rhinosinusitis with nasalis polyps

CRSsNP: chronic rhinosinusitis sine nasal polyps

AERD: aspirin exacerbated respiratory disease

AR: allergiás rhinitis (rhinitis allergica)

LBP: lipopolysaccharide binding protein

SE: Staphylococcus enterotoxin

INCS: intranazális kortikoszteroid

FESS: funkcionális endoszkópos sinus sebészet

IR: idiopáthiás rhinitis

TLR: Toll-like receptor

IFNγ: interferon gamma

IL: interleukin

PLUNC: palate, lung, nasal epithelium clone

BAFF: B-sejt aktiváló fakor

TGF-β: transforming growth faktor-beta

TRP: tranziens receptor potenciál

TRPV1: tranziens receptor pontenciál vanilloid 1

TRPA1: tranziens receptor potenciál ankyrin 1

RXT: reziniferatoxin

PIP_2: foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát

PKA: protein kináz A

PKC: protein kináz C

LPA: lizofoszfatidsav

CGRP: kalcitonin-gén rokon peptid

qRT-PCR: kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció

M&G: metilált Giemsa festés

MC: hízósejt

PMN: polimorfonukleoláris sejt

EO: eozinofil sejt

EMR1 (ADGER1): EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1, eozinofil sejtfelszíni marker

CD14: makrofág sejtfeszíni marker

CD68: makrofág sejtfelszíni marker

CD117: (c-kit) hízósejt sejtfelszíni marker

IgE: immunglobulin E

TAC4: hemokinin-1, tachykinin kódoló gén

Tartalom

I. BEVEZETÉS 5
Az orrmelléküregek anatómiája 5
A krónikus orrmelléküreg gyulladás, rhinosinusitis chronica (CRS) 8
A kapszaicin molekula 24
A Tranziens Receptor Potenciál (TRP) család 25
A TRPV1 receptor 25
A TRPA1 receptor 28
A kapszaicin szerepe a rhinitisek, rhinosinusitisek kezelésében: deszenzibilizáció és denerválás 31
II. CÉLKITŰZÉSEK 34
Általános bevezető 34
III. ANYAG ÉS MÓDSZER 35
Etikai engedélyezés 35
Beteg 35
Mintavétel 37
Immunhisztokémia 37
Kvantitatív valós idejű PCR (qRT-PCR) 38
Luminex Multiplex Immunassay 39
Statisztikai módszerek 40
IV. EREDMÉNYEK 41
TRP mRNS expresszió 41
A TRPV1 és TRPA1 receptorok szöveti azonosítása, immunohisztokémiai eredmények ... 44
Citokinmintázat 47
A gyulladásos markergének és a TRPV1/TRPA1 korrelációja 50
V. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK 54
VI. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK 59
Függelék 61
Irodalomjegyzék 63
Köszönetnyilvánítás 69

I. BEVEZETÉS

Az orrmelléküregek anatómiája

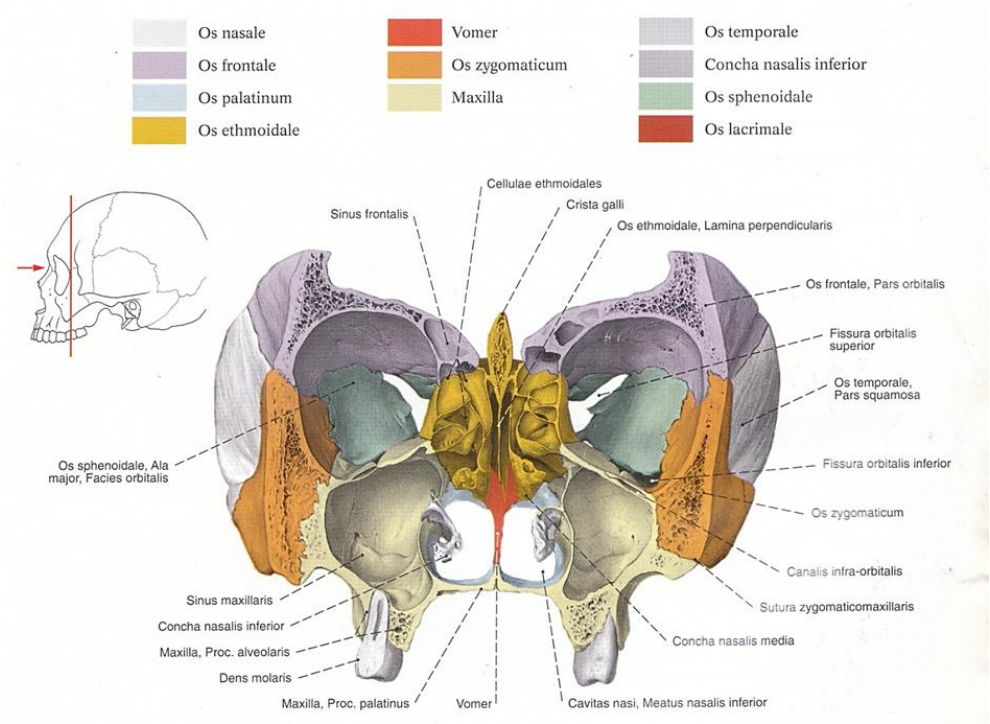
Az orrmelléküregek olyan légtartó üregrendszernek tekintendők, melyek anatómiai folytonosságban állnak egymással, légtartalmukkal a koponya tömegét csökkentik, valamint rezonátor szerepük hozzájárul a beszédhang tónusához. Az orrüreggel egységes nyálkahártya borítása mirigyes, csillószőrős hengerhám, mely közvetlenül érintkezik a környezettel és annak szennyező-káros hatásaival, emiatt elsődleges feladata az alsó légutakba jutó levegő megszűrése (filtrációja), előmelegítése és párásítása.

Az arckoponya középvonalára lokalizálódó, „többrekeszes sejtrendszer" részei (1. ábra):

- processus uncinatus: nyálkahártyával borított vékony csontlemez, mely az os ethmoidale részeként az orrüreg laterális falán a középső orrjáratban található. Eredhet a lamina papyracearól, azaz az orbita medialis faláról, a középső orrkagylóról, de akár a koponyaalapról is. A processus mögött rejlő képletek – *bulla ethmoidalis, hiatus semilunaris, ethmoid infundibulum*- a melléküregrendszer bejáratát képezik, ezért anatómiai szempontból igen fontos ennek ismerete.
- hiatus semilunaris: a processus uncinatus hátsó éle és a bulla ethmoidalis elülső fala közti rés, a sinus maxillaris nyílásának helye.
- ethmoid infundibulum: a processus uncinatustól laterálisan, mediálisan a lamina papyraceához közel elhelyezkedő tér, ide vezetődik a sinus maxillaris és esetenként a homloküreg is.
- középső orrkagyló: az ethmoid csont része, melynek függőleges lemeze a koponyaalapról ered, a vízszintes nagylemeze pedig kettéosztja a rostasejteket elülső és hátsó részre. A csontos váz változó formában pneumatizált lehet, akár különálló sejtet képezvén, ezt concha bullosának hívjuk, obstrukciót és neuralgiás kompressziót okozva akár orrdugulást és fejfájást is okozhat.
- elülső és középső rostasejtek (cellulae ethmoidales anteriores) részei

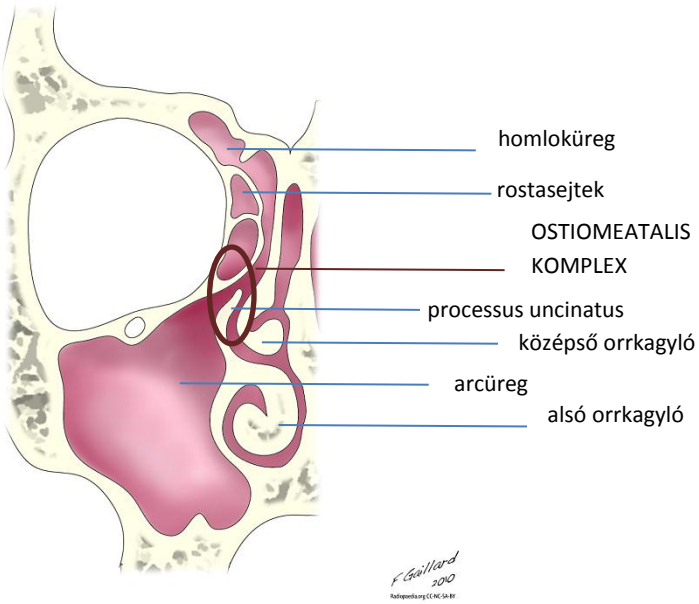
- bulla ethmoidalis, mely a legnagyobb és a legállandóbb elhelyezkedésű ethmoid sejt. Pneumatizációja változatos lehet, túl nagy sejt elérheti a középső kagyló lemezét, lezárhatja a hiatus semilunarist, mely ventillációs és elfolyási zavart okozhat.
- agger nasi: a középső kagyló eredésétől előrébb elhelyezkedő sejt, megnagyobbodása a homloküregi szájadék lezáródásához vezethet.
- frontoethmoidalis sejtek: olyan elülső rostasejtek, melyek a recessus frontalis körül helyezkednek el, olykor a homloküregbe nyomulnak, vagy akár izoláltan az üregben helyezkednek el, elfolyási akadályt képezve.
- Haller-sejt, mely infraorbitálisan elhelyezkedő, a sinus maxillaris szájadékát határoló sejt.

- hátsó rostasejtek (cellulae ethmoidales posteriores): az ethmoid rendszer, a középső kagyló nagylemeze által elválasztott hátsó elhelyezkedésű sejtjei. Különleges, névvel nevezett sejtje, az Ónodi-sejt, mely az iköböl (sinus sphenoidalis) előtti utolsó hátsó sejt, ezért sphenoethmoid sejtnek is nevezzük. Nevét leírójáról Ónodi Adolf magyar fül-orr-gégészről kapta 1904-ben. Különlegessége, hogy viszonylag nagy postero-lateralis kiterjedés esetén a látóideget (nervus opticus) körülveheti vagy akár magába is foglalhatja azt.
- a homloküreg (sinus frontalis), az os frontale squamájában elhelyezkedő, gyakran aszimmetrikus septummal felosztott páros üreg. Tölcsérszerű nyílása – ún. homokóra alakú járat- a recessus frontalis, mely az elülső rostasejtekkel együtt a középső orrjáratba nyílik.
- arcüreg (sinus maxillaris v. Highmoore-üreg): az os maxillae testének nagy részét kitöltő üreg, melynek természetes nyílása az esetek 50 %-ban a középső orrjárat ethmoid infundibulum térségébe, annak hátsó részébe fut. Kb. 10%-ban a naturális nyílástól kissé lejjebb és hátrébb egy járulékos nyílás helyezkedhet el.
- iköböl (sinus sphenoidalis): az ékcsont testének nagy részét kitöltő, változatos alakú és elhelyezkedésű válaszfal által két félre osztott üreg, melynek természetes nyílása a felső kagyló mögötti térségbe a sphenoethmoid recessusba nyílik.



1. ábra: *Az orrmelléküregek csontos felépítése. (Forrás:* [1]*)*

Ostiomeatalis komplex (OMC): a melléküreg rendszernek a középső orrjáratra eső része, mely összeköti a homloküreg, az elülső rostasejtek és az arcüreg elfolyását (2. ábra). Jelentősége az anatómiai variációk mellett kialakuló elzáródásokból adódik, továbbá műtéti beavatkozás során célunk ennek a területnek az egységesítése.



2. ábra: *Az ostiomeatalis komplex. Forrás:* [2]*, átdolgozva.*

A krónikus orrmelléküreg gyulladás, rhinosinusitis chronica (CRS)

Definíció

A CRS az orr és orrmelléküregek olyan krónikus gyulladása, mely teljes gyógyulás nélkül legalább 12 hétig áll fenn és sajátos tünetekkel jellemezhető (orrdugulás, orrfolyás, arctáji fájdalom, és/vagy szaglászavar), továbbá pozitív orrendoszkópiás és/vagy computer tomográfiás (CT) lelet látható.

A CRS epidemiológiája

A diagnosztikai pontatlanságok és a terápiás spektrum sokszínűsége valamint az epidemiológiai adatok hiányossága is arra hívja fel a figyelmet, hogy a diagnózis felállításához jól definiált beválasztási kritériumok, standardizált definíciók szükségesek, mely alapja lehet egy evidencia alapú prevalencia és incidencia felmérésnek. CRS prevalenciája ez európai populációban a legújabb, 19 európai centrumnak kiküldött standardizált kritériumrendszer alapján történő felmérés során 10,6 %-nak bizonyult, Európát és USA-t is figyelembe véve 5-15%-nak adódik. Az CRS polipózissal járó formájának incidenciája normál populációban 0,5-4.3% körüli, felnőttkori asztmában 7-15%, míg aszpirin intoleranciás betegekben 36-96%-nak bizonyult egy vizsgálat alapján [3].

A CRS etiológiája

A CRS egy multifaktoriális, az orrüreget és orrmelléküregeket érintő betegség, melynek pontos etiológiája még máig tisztázatlan. A korábbi feltételezések korlátai, miszerint a CRS az akut rhinosinusitisek (ARS) inkomplett vagy terápiarezisztens végállapota, mára számos alternatív hipotézis kialakulásához vezettek, de máig sem alakult ki egységes konszenzus. Feltételezzük, hogy a betegség kialakulásának oka a betegnek a környezet káros hatásaira adott immunpatológiai reakciójában rejlik, melyet további faktorok, komorbid állapotok befolyásolnak.

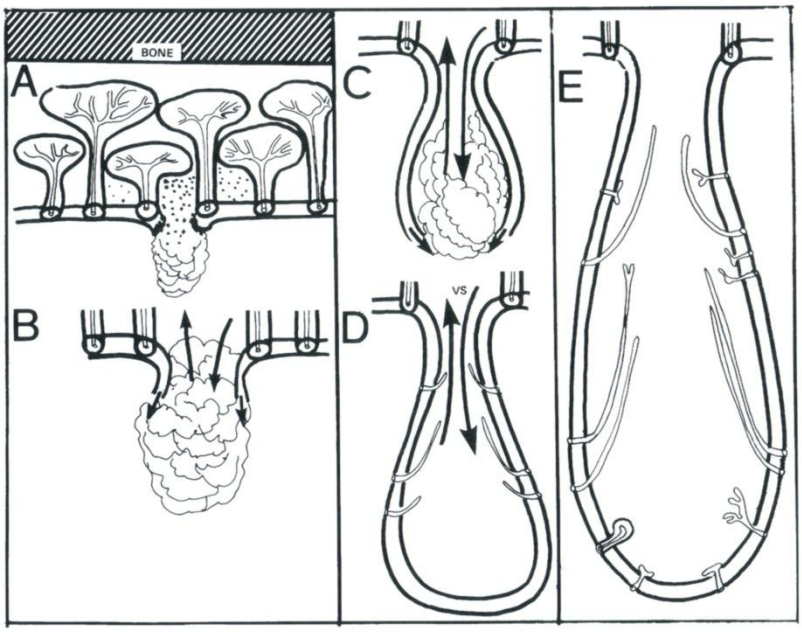
<u>Elméletek:</u>

1. Az 1980-as évek klasszikus teóriája szerint a betegség kialakulása az ún. ostiomeatalis complex (OMC) lezáródásával kezdődik: a ventillációs és elfolyási akadályozottság miatt nyákretenció alakul ki, csökken a pCO2, a fagocitózis és az

opszonizáció, károsodik a csillószőrös hám, ami további retencióhoz vezet, aminek következtében gyulladás alakul ki.

Egy frissebb tanulmány szerint [4], melyben a CRS súlyosságát és típusát radiológiai elemzés során értékelték, a CRS betegek 35%-ban nem találtak manifeszt OMC elzáródást. Azonban azokban, akiknél igen, ott az egy vagy kétoldali elzáródás szignifikánsan korrelált az asztma és orrpolipózis jelenlétével. Tovább szemlélve az OMC körüli kissé homályos képet, ugyanez a kutatócsoport azt is megvizsgálta, hogy önmagában az OMC polipos lezártsága befolyásolja-e a környező melléküregek állapotát. Azt találták, hogy míg nem polipos formában az OMC lezártsága kifejezetten növeli a szomszédos melléküregek gyulladását, addig a polip nem.

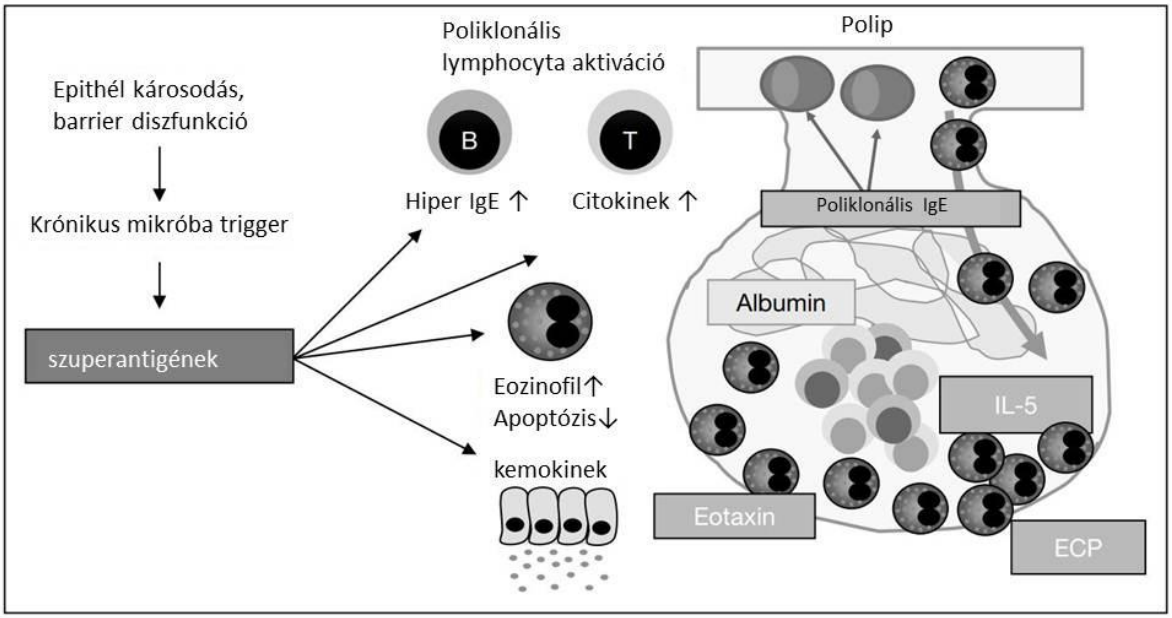
2. <u>Epithél ruptura elmélet</u> szerint az orrnyálkahártya (mucosa) gyulladásos infiltrációja és ödémája során az epithélen kis sérülések, szakadások jönnek létre, melynek szélei felől megkezdődik az új mucosaréteg kialakulása, majd neovaszkularizáció és újabb mirigyek jelennek meg, mely polipképződéshez vezet (3. ábra).



3. ábra: *Epithél elmélet. Ábra forrása: M. Tos: Pathogenesis of nasal polyps, Rhinology; 1977* [5] *.*

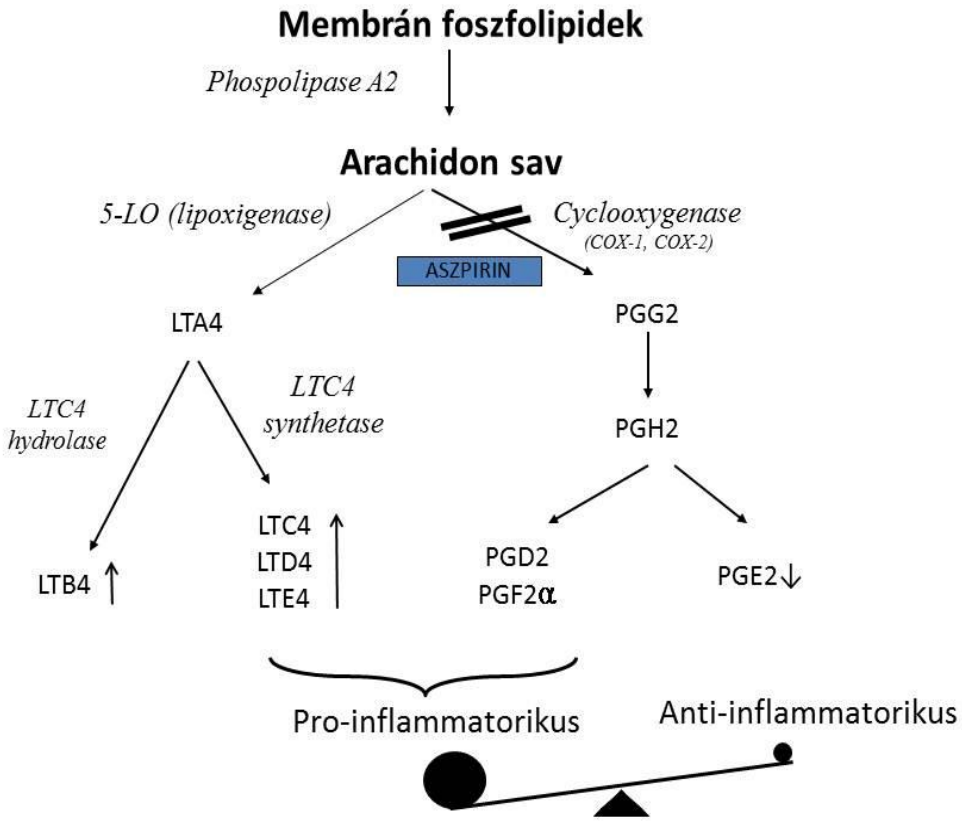
3. Az újabb próbálkozást a 1990-es évek végén napvilágot látó gomba elmélet jelentette, melynek lényege, hogy minden CRS alapja az Alternaria gombafajra adott erőteljes gyulladásos reakció. A Ponikau [6] nevéhez fűződő „eosinophil fungal rhinosinusitis" (eozinofil gombás rhinosinusitis) definíció és a gomba CRS-ben betöltött oki szerepe, -miszerint nem allergiás, 1-es típusú hiperszenzitivitási reakcióról van szó, hanem a lokális eozinofilia direkt gombaellenes hatásáról - rá egy évtizedre megdőlt: nem sikerült elég meggyőző immunológiai folyamatot felmutatni az elmélet hátterében, továbbá az antifungális terápia sikertelensége is ezt támasztotta alá. Manapság inkább úgy látjuk, hogy a gomba, mint befolyásoló tényező, bizonyos CRS fajtákban a betegség lefolyását, jellegét módosítja [7,8].

4. A 21. század elején megjelent tudományos vizsgálatok a Staphylococcus szuperantigén elméletre fókuszálnak. Szuperantigéneknek nevezzük az olyan antigéneket, melyek képesek egyszerre több T-sejt választ kiváltani. Bachert és mtsai szerint a károsodott epithélen keresztül bejutott Staphylococcus enterotoxin (SE) többféle immunmediált útvonalat indít be egyszerre, melynek következtében a gyulladási mechanizmus a Th2 típusú útvonal felé terelődik, T és B-limfociták aktivizálódnak. Az erőteljes immunválasz hatására a B-sejtek izotípusváltását majd poliklonális IgE termelődést figyeltek meg, valamint eozinofil és hízósejt beáramlást. Az elmélet szerint a nagy mennyiségben termelődő IgE ezután szisztémásan a szérumban is megjelenik, következésképpen gyulladásos tüneteket okozhat az alsó légutakban is, intrinszik asztmát eredményezve. Tovább erősítheti a kórokozó szerepét a CRS betegek nagy részében megfigyelhető biofilm. Ami azonban kétségeket vet fel, hogy orrpolipózisban szenvedő betegeknek csak közel felében mutatható ki a szuperantigénre adott kóros válasz (4. ábra).



4. ábra: *Szuperantigén elmélet. Forrás:* [9].

5. <u>Aszpirin intolerancia</u>: a ciklooxigenáz enzim fokozott gátlása miatt kialakuló foszfolipid metabolizmus zavara, melynek során a proinflammatorikus leukotriének (LTR) szintézise nő, az antiinflammatorikus prosztaglandinok (PG) mennyisége pedig csökken. Elsősorban aszpirin által kiváltott felsőlégúti betegségben (aspirin exacerbated respiratory disease: AERD) valószínű a szerepe, azonban úgy tűnik, hogy az aszpirin toleráns orrpolipos betegekben is szerepe lehet a foszfolipid metabolizmus útvonal zavarának (5. ábra).

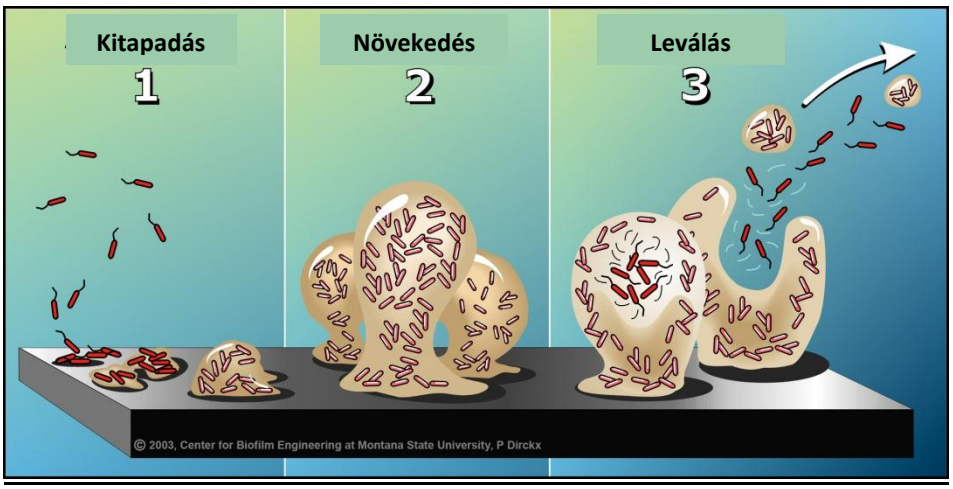


5. ábra: *A foszfolipid útvonal egyensúlya és eltolódása aszpirin intoleranciában, kóros mennyiségű eikozanoid termékek (LTE, LTD, PGD) felhalmozódásával. Forrás:* [10].

6. Immun barrier hipotézis szerint a melléküregi nyálkahártya mechanikai barrierjének és/vagy a veleszületett immunválaszának hiányossága CRS kialakulásához vezet. Mindez lehetőséget ad különböző mikroorganizmusok, kórokozók kolonizációjának, mely további epithél károsodást és fokozott immunválaszt hoz létre. Az elsősorban Th2 irányba tolódó kórosan fokozott immunválasz további barrier károsodáshoz vezet, s ez, mint egy circulus vitiosus tartja fenn a krónikus gyulladást.

7. Biofilm: A biofilmek extracelluláris mátrixba ágyazott kórokozó baktériumok alkotta telepek. Gyakori biofilm kórokozók a Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus fajok és Staphylococcus aureus. A mucosán kialakuló biofilmek mátrixa tökéletes védelmet nyújt a szervezet támadásai és az antibiotikus terápia ellen. Feltételezik, hogy a gyakori recidívák, a betegség újbóli fellángolása hátterében a biofilm életciklusa során felszabaduló, szabadon lebegő

kórokozók tehetők felelőssé (6. ábra), azonban nem egyértelmű, hogy a CRS kezdeti kialakulásában valóban szerepet játszanak.



6. ábra: *Biofilm kialakulása. Forrás: http://www.biofilm.montana.edu, átdolgozott*

CRS hez társuló további faktorok

Ciliáris diszfunkció: A csillószőrök károsodása esetén a sinusokban lassuló nyáktranszport krónikus gyulladáshoz vezethet. A csillószőrök másodlagos károsodása minden CRS-ben jelen van, általában reverzibilis. Bizonyos genetikai betegségek kapcsán, mint a primer ciliáris dyskinesis, mely a csillószőrök veleszületett defektusából adódik, valamint a cisztás fibrózis, melynek során a sűrű viszkózus nyák transzportja során károsodik a csillószőr a CRS előfordulása jóval gyakoribb az átlagoshoz képest.

Asztma: Az asztma és a CRS szoros összefüggést mutat, bár ok-okozati összefüggése még további vizsgálatokra vár. Orrpolipózisban kifejezetten magas az asztmás betegek aránya, valamint az asztmások kb 7%-nál biztosan kialakul orrpolipózis is. Az orrpolipózisban szenvedő asztmás betegek 13%-a nem atópiás, azaz nem allergiás alkatú, míg 5 %-a atópiás. Erősebbek a CRS által okozott tünetek, magasabb a terápiarezisztens esetek aránya, továbbá a szaglászavar mértéke különösen jól jelezheti a beteg állapotát ebben a betegcsoportban.

*Aszpirin érzéken*ység/*intolerancia*: Különleges betegcsoportot alkotnak azon betegek, akiknél aszpirin érzékenység áll fenn. Jellegzetes Samter-triásznak nevezett kórkép: az

aszpirin intolerancia, orrpolipózis és intrinszik asztma együttese, a klinikai tünetek jellegzetes „menetelésben” időben egymást követve jelennek meg. Jellemzően nem allergiás típusú asztmáról van szó. A betegség immunpatológiai alapja a foszlolipid metabolizmus útvonalának zavara. A túlzott ciklooxigenáz enzim gátlás miatt nagy mennyiségű gyulladásos mediátor - leukotrién (LTD, LTE) - termelődik, mely a proinflammatorikus túlsúly kialakulásához vezet.

Allergia: Bár az allergiás rhinitis prevalenciája magasabb CRS-ben, az allergia CRS-ben játszott kóroki szerepe még mindig nem bizonyított. Az allergiás rhinitis (AR) kóroki szerepét illetően számos pro-és kontra érvek sorakoznak fel. Egyesek szerint az atópiás tünetek jóval gyakoribbak CRS-ben, úgymint a pozitív bőrpróba (Prick-teszt: szkarifikációs subcutan allergia próba) is, mások ezt megkérdőjelezik. Újabban az össz- és speciális IgE (allergén specifikus antitest) és az orrpolipok eozinofil infiltrációjának mértékével találtak összefüggést. Az allergiás tünetek súlyos formában pl. perenniális (egész évben fennálló) AR esetén- hasonlóak lehetnek a CRS tüneteihez. Ha azt is figyelembe vesszük, hogy az AR során nem csak az orr, de az orrmelléküregek nyálkahártyája is involvált, praktikusan egy „allergiás rhinosinusitis” zajlik: a gyulladásos kép a súlyosabb AR formákban hasonlíthat CRS-re. Azonban a nem allergiás CRS és allergiás CRS betegeket tekintve az AR nem jelentett befolyásoló tényezőt a tüneteket és a terápiás kimenetelt illetően. Az allergiás rhinitises betegek kb. 0,5-4,5 %-nak van orrpolipózisa, mely megegyezik a normál populáció adataival [3].

Dysbiosis: Újabban úgy tűnik, hogy az egyénre jellemző stabil mikrobiális flóra egyensúlyzavarának (dysbiosis) komoly szerepe lehet a CRS kialakulásában. Bár nem beszélhetünk CRS típusú mikrobiomról, az mégis igazolódott, hogy CRS-ben szenvedő betegek orrmelléküregi flórája jóval szegényesebbnek bizonyult, mint az egészségeseké [11]. Míg a jóindulatú *Lactobacillusok* száma csökkent, addig bizonyos *Corynebacteriumok* száma kifejezetten emelkedett. CRS-ben végzett mikrobióta kutatás mutatott rá arra, hogy 4 domináns baktériumcsalád előfordulása lehet jellemző a betegségben: Streptococcaceae, Pseudomonadaceae, Coryneabacteriaceae és Staphylococcaceae [12]. A Corynebacterium dominancia IL-5 génexpresszió emelkedéssel járt, mely fokozott rizikót jelent az orrpolipózis kialakulását tekintve. Egy további vizsgálatban „védelmező” baktérium szerepét is sikerült igazolni: az egér

rhinosinusitis modellben visszaadott *Lactobacillus sakei* protektív hatásúnak bizonyult az infekciót okozó *Corynebacterium tuberculostearicum* ellen [13].

Ezen eredmények tekintetében a terápiás lehetőségek spektruma a CRS fenotípusának függvényében szűkíthető (pl. probiotikus kezelés, anti IL-5 terápia).

Osteitis, azaz a melléküregek csontgyulladása valószínű, hogy inkább a CRS patofiziológia része és nem szövődménynek tekintendő. A gyulladás mellett csontfelszívódás (osteoresorbtio) és fokozott csontanyagcsere folyamatok figyelhetők meg fluorescens vizsgálóeljárással doxycyclin kezelést követően.

Környezeti hatások (dohányfüst, porok, kén-dioxid, különböző pollenek), *genetikai faktorok, immunszuprimált állapotok*, *terhesség és hormonális státusz, anatómiai eltérések és iatrogén sérülések* (korábbi melléküregi műtétek), valamint a *gastro-oesophagealis reflux* mind hozzájárulnak a CRS kialakulásához, de evidencia alapú vizsgálatok hiányában nem feltételezik kóroki szerepüket.

A CRS tehát multifaktoriális, a kialakulási mechanizmusát nem lehet egyetlen elmélettel jellemezni, valószínűbb inkább, hogy ezek összefüggésben állnak egymással. A megjelent kutatási eredmények azonban egyértelművé tették, hogy az állandó gyulladás nem egy patogén által jön létre, hanem a beteg és a környezet között létrejövő, nem megfelelő kölcsönhatásból és számos epigenetikai tényezőből adódik.

Diagnosztika

A diagnózis felállításának egyik legfontosabb eleme az alapos anamnézis felvétel. Már a tünetek lefolyásából, időtartamából és a panaszokból következtethetünk a betegségre. A diagnózis alapja legalább 2 orrmelléküregi tünet megléte, amiből az egyik mindenképpen orrváladékozás vagy orrdugulás kell legyen. Ezt követően endoszkópos orrvizsgálattal tudjuk a betegséget kimutatni. Általában az OMC és környékén valamint a sphenoethmoid recessusban megjelenő gyulladásos jelek, ödéma, váladékcsorgás hívják fel a figyelmet a betegségre Az endoszkópos vizsgálat mellőzése súlyos hibának számít. Egy egyszerű orrtükrözéssel csak „nagyvonalú” státuszt tudunk felvenni. Az arckoponya vagy orrmelléküreg CT felvétel fontos része - lehet- a diagnosztikának a stádium megítélése szempontjából súlyos komplikált, makacs, konzervatív terápiára nem reagáló esetekben, és műtéti beavatkozás előtt

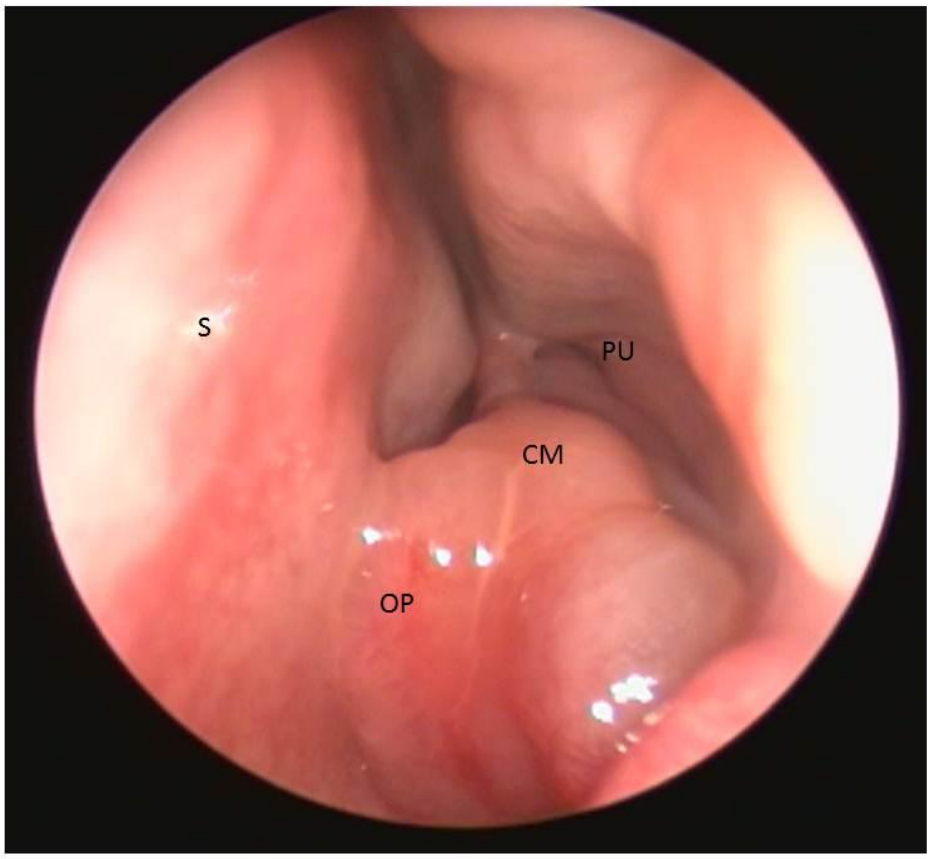
feltétlenül. Mikrobiológiai mintavétel, allergológiai kivizsgálás és a komorbid betegségek, mint pl. asztma feltérképezése segíthet a klinikai megjelenési formák besorolásában. A jövőben a molekuláris diagnosztika és hisztopatológiai történések alaposabb elemzése segíthet a betegség pontos megértésében.

A krónikus orrmelléküreg gyulladás fenotípusai és endotípusai

A krónikus rhinosinusitis klinikai megjelenése alapján fenotipizálható. Két releváns **fenotípus**a a polipos és a polip nélküli CRS (az angol szakirodalmi kifejezés szerint chronic rhinosinusitis with nasal polyps: CRSwNP és chronic rhinosinusitis sine polyps: CRSsNP). A CRS súlyossága alapján recidív és „recalcitrant" fenotípusokról beszélhetünk, előbbinél gyakori, visszatérő tünetek, utóbbi esetén makacs, terápiarezisztens esetekről van szó. Külön csoportot képeznek a komplikációval járó formák (mucocele, osteitis, optikus neuropátia). A CRS-t fenotipizálhatjuk továbbá a szérum specifikus IgE pozitivitás, valamint a kiváltó események, (pl. aszpirin), bakteriális mikrokörnyezet alapján.

A CRS fokozatai, stádiumai

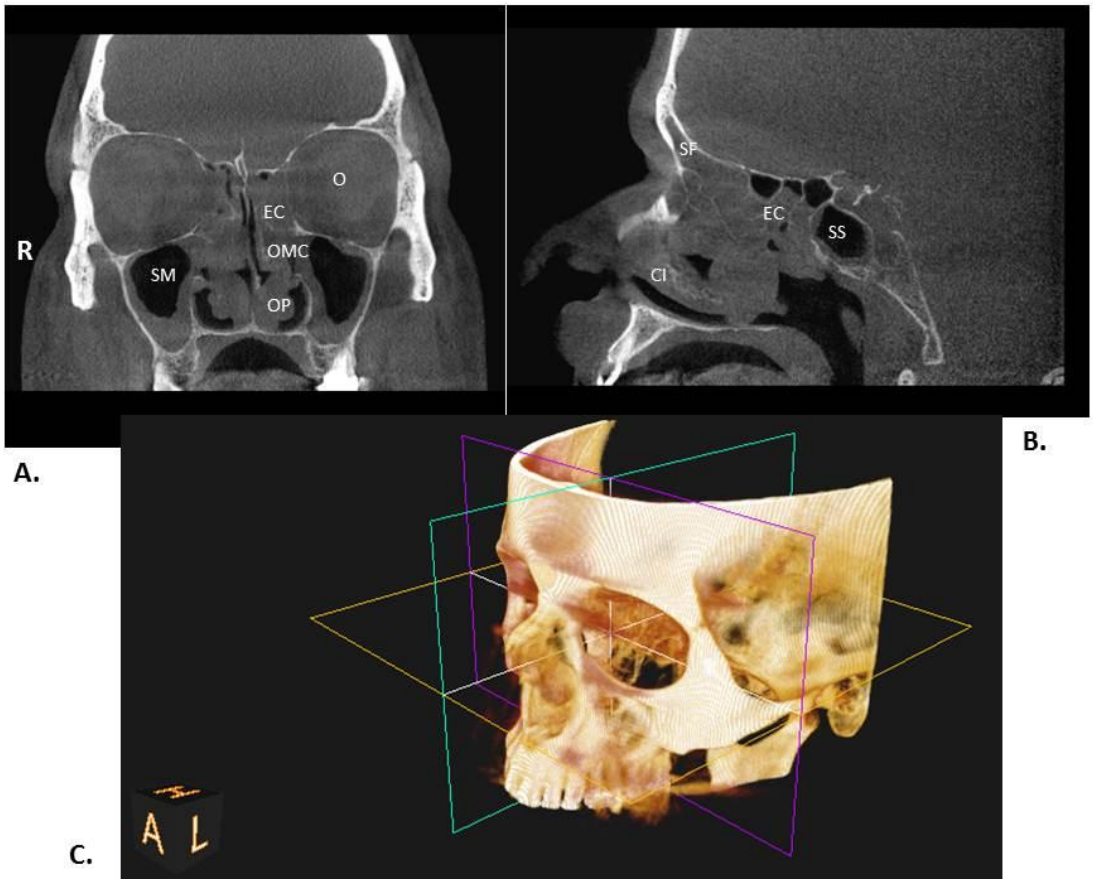
A fenotípus meghatározása klinikai vizsgálat során történik, elsősorban orrendoszkópiás és/vagy CT lelet alapján, pontos megítélése a terápiás döntés kiválasztásánál fontos. A klinikai állapot leírásához grading rendszert használunk (Davos skála), melyet endoszkópos vizsgálattal ítélünk meg a polipok mérete és középső orrjárathoz való elhelyezkedése alapján.



7. ábra. *Orrpolipózis (CRSwNP) endoszkópos képe, bal oldali orrüregben, grade 3 polip (saját beteganyag). PU: processus uncinatus, CM: choncha media-középső orrkagyló, OP: orrpolip, S: septum-orrsövény.*

- Grade 0: nincs polip
- Grade 1: a polipok a középső orrjáratot nem haladják meg, az középső orrkagylót nem érik el
- Grade 2: a középső orrjáratot meghaladó nyelezett polipok
- Grade 3: diffúz, más régióban is megtalálható nyelezett polipok (pl. sphenoethmoidalis recessusban), melyek teljes obstrukciót okoznak
- Váladékozás: 0-nincs váladék, 1-híg váladék 2-sűrű, purulens váladék
- Ödéma: 0-nincs ödéma, 1-enyhe, 2- súlyos
- Pörkösödés: 0- nincs, 1-enyhe, 2-súlyos
- Hegesedés (postoperatív-műtét utáni állapotban): 0-nincs, 1-enyhe, 2-súlyos

A CT felvételek (8. ábra) elemzésére többféle osztályozó rendszert vezettek be, melyek közül a gyakorlatban a Lund-Mackay-féle rendszer terjedt el. Ennek lényege, hogy a melléküregek fedettségét (0-nincs fedettség, 1-részleges fedettség 2-teljes fedettség) régiónként (arcüreg, elülső rosták, hátsó rosták, iköböl és homloküreg, valamint az OMC, itt 0-szabad 2-lezárt) és oldalanként pontértékkel osztályozzuk. A kapott pontok összegéből (max. 12 pont/oldal) következtetünk a betegség stádiumára [14].



8. ábra: *Arckoponya CT (CBCT: cone-beam CT felvétel, 250µm szeletvastagság):* ***A.*** *coronalis sík, R: jobb oldal, SM: sinus maxillaris-arcüreg, OMC: ostiomeatalis komplex, O: orbita-szemüreg, EC: cellulae ethmoidales-rostasejtek, OP: orrpolip.* ***B.*** *Sagittalis sík, SS: sinus sphenoidalis-iköböl, SF: sinus frontalis-homloküreg, CI: alsó kagyló* ***C.*** *Arckoponya CBCT 3D rekonstrukció (saját beteganyag). A krónikus nyálkahártya gyulladás és lágyszövetek szürke színben, a légtartó üregek fekete színben látszanak.*

A szubjektív tünetek alapján értékeljük a betegség súlyosságát, melyet a gyakorlatban elterjedt ún. vizuális analóg skála (VAS) segítségével mérhetünk. Egy 10 cm-es

vonalon kell a betegnek megjelölnie állapota súlyosságát, ahol a 0 a tünetmentes, a 10 pedig a legrosszabb állapotot jelenti. A CRS terápiás lépcsőjének megválasztásánál van kifejezett jelentősége.

- 0-3 pontig enyhe
- 3-7 pontig középsúlyos
- 7 pont felett súlyos

Ezen kívül a tünetek súlyossága különböző életminőség kérdőívekkel, valamint a SNOT-22 (sino-nasal outcome test) kérdőívvel vizsgálható, melyek célzott kérdéseket tesznek fel az orr és egyéb tünetekre, valamint a szociális problémákra.

A gyakorlatban azonban azt látjuk, hogy a protokollszerűen alkalmazott terápiás lehetőségek nem mutatkoznak sikeresnek minden CRS betegben. A CRS heterogenitásának felismerése vezetett oda, hogy további számos biológiai szubtípust tudunk megkülönböztetni pusztán a *patofiziológiai mechanizmusok alapján*, melyeket **endotípus**nak hívunk. Ezen mechanizmusok és az ennek megfelelő biomarker jellemzők megismerésével megérthetjük a betegség lefolyását, megjósolható a későbbi recidívák esélye, valamint pontosabb terápiát választhatunk.

Th-sejt dominancia / anti-IL-5 terápiás válasz: A krónikus gyulladás hátterében fellelhető Th1/Th2 folyamatok jelenléte és az ezzel járó immunológiai folyamatok fenotípus szerinti dominanciát mutatnak. Ezek alapján európai betegcsoportban az orrpolip nélküli formában inkább Th1 típusú gyulladás és emelkedett interferon-gamma (IFNγ) észlelhető, míg az orrpolipózist Th2 mediált betegség, emelkedett interleukin-4 (IL-4), interleukin-5 (IL-5) és eozinofilia jellemzi. Újabban a regulátoros T-sejt (Treg) csökkent funkcióját feltételezik az orrpolipózis kialakulásában. Az Th2 domináns, főként Európában jellemző orrpolipózis endotípusát az anti-IL-5 biológiai terápiára adott pozitív válasszal is jellemezhetjük.

Csökkent epitheliális immunfunkció: CRS-ben számos vizsgálat támasztotta alá az epithélen zajló védekező mechanizmusok károsodását, vagy csökkenését, mely kedvez a pathogének bejutásának. Az ún. lipopoliszacharid kötő antimikrobiális peptidek (LBP) egy fajtája a PLUNC (palate, lung, nasal epithelium clone) expressziója

csökken, a mucosa epithél által termelt psoriazin és defenzinek, valamint a mirigyhám által termelt lizozim és lactoferrin molekulák szekréciója csökken, aminek következtében az elsődleges immunvédelem gyengül. Általában e folyamatok állnak a „recalcitrant" makacs, terápiarezisztens esetek hátterében. Mások egyes Toll-like receptorok (TLR) csökkent működését találták korai, műtét utáni polip recidívában. Fontos szerepe van a STAT3 transzkripciós faktornak, melynek csökkent működése következtében hiper-IgE szindróma (Job-betegség) alakul ki gyakori visszatérő bakteriális infekciókkal.

Az aktivált T-sejtek által termelt citokinek, IL-4 és IFNγ aktivizálják az epithél proinflammatorikus kaszkádját, majd a további felszabaduló citokinek és kemokinek apoptózist és további barrier károsodást hoznak létre. Mindez kedvez a kolonizáló baktériumoknak, biofilm kialakulásának és fenntartja a gyulladásos folyamatot.

Staphylococcus aureus/biofilm: A biofilmképző Staphylococcus aureus szuperantigén enterotoxinja (SE) felgyorsult gyulladásos reakciót eredményez CRS-ben. Th2 milliő, IL-4, IL-13 citokin felhalmozódás, csökkent TGF-β, lokális eozinofilia, poliklonális IgE termelődés látható, specifikus SE IgE mérhető. A gyakori recidivákat magyarázhatja a baktérium jelenléte.

Immunglobulin szintézis, anti-IgE terápiás válasz: A lokálisan megjelenő plazmasejtek- melyeket gyakran látunk polipokban folliculusokban rendeződve- fokozott lokális IgE és IgA termelése összefüggésben áll a megfigyelt eozinofiliával és független az atópiás hajlamtól. Számos allergén és SE által aktivizálódik, melynek hatására a hízósejtek degranulálódnak, ami hozzájárul a gyulladás fokozódásához. A SE specifikus IgE és eozinofilia összefüggést mutat komorbid asztma jelenlétével. Ennek az endotípusnak az ismerete alapozta meg speciális esetekben az anti–IgE biológiai terápia (omalizumab) lehetőségét, és egyben a terápiára adott válasz kimenetele utal az adott endotípusra.

Újabban felmerül a lokális autoimmunitás lehetősége is. „Recalcitrant" polipos esetekben kifejezetten magas B-sejt aktiváló fakort (BAFF) B- és plazmasejt expanziót, sőt autoantigéneket figyeltek meg.

Remodelling, eozinofilia/neutrofilia, hisztopatológiai eltérések: A krónikus gyulladás következtében - hasonlóan az asztmában zajló szöveti átalakuláshoz - strukturális változások figyelhetők meg CRS-ben. Általánosan jellemző az angiogenezis, a bazál memrán megvastagodása, goblet-sejt hiperplázia, subepitheliális fibrosis. Feltételezik, hogy a mucosa szerkezetváltozásának jellegét a TGF-β protein és annak receptor expresszió változása határozza meg. Egyes szerzők szerint a nem polipos CRS-ben inkább kollagén depozíció, fibrózis és fokozott TGFβ jellemző, míg a polipos formában inkább ödéma, angiogenezis és csökkent TGFβ figyelhető meg. Az ún. nem eozinofil sinusitisben (NES) a mononuclearis sejtek, neutrofilek és hízósejtek infiltrációja jellemző masszív remodelling-gel, kollagén lerakódással. Az eozinofil túlsúlyos CRS-ben kevesebb fibrotikus átalakulás, magas helyi IgE arány és eozinofilia látható [3,15].

A leggyakoribb szövettani típus az esetek mintegy 85%-ban az ún. „allergiás eozinofil sejtes forma, melyre jellemző az ödéma melletti eozinofília. Az elnevezés korszerűtlen, nem utal a pathofiziológiára. Kisebb számban fordul elő a fibroinflammatorikus jellegű polip, mely epithél metapláziával, fibrózus átalakulással, neutrofiliával jár. Két ritkább forma a glanduláris hiperpláziával és az atípusos strómával járó polip.

A krónikus orrmelléküreg gyulladás terápiás lehetőségei

Általánosságban a CRS kezelése lehet gyógyszeres és sebészeti. A kezelési terv felállításában hasonlóan az asztma protokollhoz lépcsőzetes terápia került bevezetésre figyelembe véve a fenotípusokat és a súlyossági fokot. A terápia hatékonyságát a betegség kontrolláltsága jellemzi, melyet szubjektív és objektív paraméterek alapján ítélünk meg.

Konzervatív, gyógyszeres kezelés

1. Evidencia alapján ajánlott kezelések:
    - Helyi szteroid, intranazális kortikoszteroid (INCS): Mindkét csoportban a bázisterápia része. Csökkenti az eozinofil aktivációt és a gyulladásos citokinek termelődését. A korszerű INCS molekulák segítségével a lokális mellékhatások minimálisra szorultak. Magyarországon a spray formátumú kiszerelés terjedt el, melynek a megfelelő mélységi bejutása

kérdéses. A nagyobb volumenű kiszerelések könnyebben elérik a rejtett régiókat is. A hosszútávú, legalább 3 hónapos kezelés utáni javulás esetén a rendszeres gondozás és az INCS további használata javasolható. Súlyosabb esetben a következő lépcsőre lépünk.

- Lokális, biodegradábilis szteroid implantátum (Propel®): műtét során, az OMC területére behelyezett stent, mely folyamatos szteroid felszabadulás mellett 30 nap alatt lebomlik. Javítja a műtét eredményességét, csökkenti a hegesedés mértékét és a postoperatív beavatkozásokat. Magyarországon még nem elérhető.
- Orális kortikoszteoidok: bázisterápia mellett adható, kifejezetten jó eredményeket lehet elérni súlyos obstrukciót és szaglászavart okozó polipózisban. Jelentősen csökkenti a polip méretét, a gyulladásos tüneteket és a váladékozást is. Műtét előtti időszakban előkészítésnek is alkalmazzák. Adagolási módja igen eltérő lehet, leggyakrabban közepesen magas dózisról indulva fokozatosan csökkenő séma szerint adják, kb. 2-4 hétig.
- Nazális sós irrigáció, xilitol: javítja a csillószőrök működését, segíti a nyálkahártya regenerációját, biofilm gátló, gyulladáscsökkentő hatású. Kiegészítő kezelésként minden CRS típusban adható.
- Hosszú távú antibiotikus terápia: nem feltétlenül antimikróbás hatása miatt, hanem a járulékos immunmodulátor és gyulladáscsökkentő hatásuk miatt alkalmazzuk CRS-ben. Nem polipos formában elterjedt a 3 hónapos makrolid terápia (clarithromycin 250 mg/die, azithromycin 250mg/die), polipózisban újabban a doxycyclint alkalmazzák 3-4 hétig kis dózisban(100 mg/die), aminek hatására csökken a hátracsorgó váladékozás mértéke és a polipok mérete.

2. Minimálisan vagy egyáltalán nem ajánlott kezelések

Az alábbi kezelési lehetőségekről megoszlanak az ajánlások, ennek ellenére az empirikus tapasztalatok alapján számos esetben alkalmazzák.

- Antifungális terápia: orális itraconazole-t használnak olyan esetekben, ahol gombás eredet merül fel, pl. AFRS vagy EFRS esetén.
- Aszpirin deszenzibilizáció: az aszpirin és/vagy NSAID –re érzékeny betegcsoportban alkalmazható eljárás. Lényege, hogy fokozatos aszpirin terhelés (telítés) után fenntartó dózisban napi 100 vagy 300 mg aszpirint kap a beteg hosszú távon. A polip recidíva tekintetében a kezdeti eredmények -főképp a 300 mg mellett- örvendetesnek bizonyultak, azonban mellékhatásai miatt (gyomorfekély, vérzés, asztma romlása) kevésbé sikeres az alkalmazásuk [16].
- Leukotrién antagonista: az eicosanoid útvonal kóros működése következtében kialakult túlzott LTR termelés miatt elsősorban aszpirin intoleranciában szenvedő betegcsoportban alkalmazható, bizonytalan eredményekről számolnak be.
- Kapszaicin kezelés vagy más néven deszenzibilizáció célja a neurogén gyulladás csökkentése. Eddig összesen 1 randomizált kontrollált vizsgálat történt CRS kapszaicin kezelés tekintetében, melyben a pontozási rendszert alkalmazva azt találták, hogy a polipok mérete jelentősen csökkent 5 kezelés hatására. A kezelésről részletesebben egy különálló alfejezetben számolunk be.

Ígéretesnek tűnnek a biológiai terápiák is, melynek CRS-ben történő alkalmazása jelenleg klinikai vizsgálat alatt áll. Az **anti-IL-5** (mepolizumab és reslizumab) monoklonális antitesttel történt vizsgálatok endotípus alapján szelektált orrpolipózisban jelentősen és hosszú távon csökkentették a polipok méretét és a betegség súlyosságát kevés mellékhatás mellett. Az omalizumab, **anti-IgE** humán monoklonális antitest súlyos, magas szérum össz IgE-vel járó asztmás betegekben már alkalmazható. Magas perifériás és szöveti IgE-vel járó orrpolipózisban is tettek kísérletet a kezelés bevezetésére, azonban a nem túl kecsegtető eredmények és a súlyos mellékhatások lehetősége miatt nem került be az európai ajánlásba.

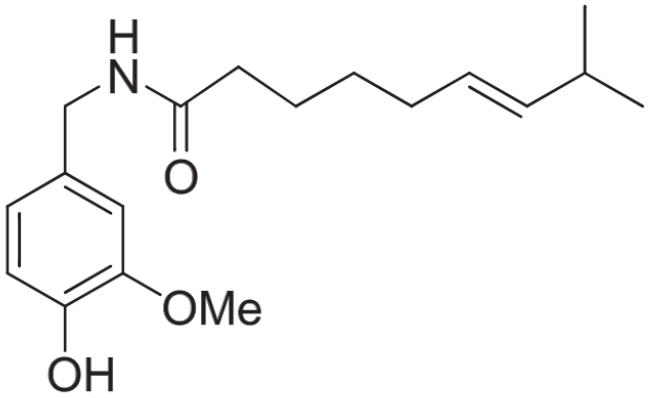
Sebészi terápia

A maximális konzervatív terápiára nem reagáló, súlyos panaszokat okozó CRS-ben műtét választható. A műtét: funkcionális endoszkópos szinusz sebészet (FESS) lényege

a mellékűregi sejtek elfolyásának biztosítása, a gyulladt nyálkahártya és polipok eltávolítása és egy jól átjárható, nyitott OMC kialakítása. A műtét célja nem egyedül az anatómiai elzáródás megoldása, hanem a gyulladásos szövet eltávolítása, mellyel a keringésbe kerülő inflammatorikus faktorok, mediátorok és immunglobulinok mennyisége is csökkenthető. Egyesek minimális invazív delikát beavatkozást javasolnak, vigyázva a nyálkahártya sérülésre mások kifejezetten agresszív, drasztikusan tág, egységes üregrendszer kialakításában látják a recidíva csökkentésének lehetőségét [17,18].

A kapszaicin molekula

A kapszaicin az erős paprika (*Capsicum anuum*) csípős érzetéért felelős fő hatóanyaga. Az erős paprika aktív összetevőjét eredetileg Christian Friedrich Bucholz fedezte fel 1816-ban, melyet akkor *capsaicin*-nek nevezett, majd később Thresh izolálta tiszta formában 1846-ban [19]. Vizsgálatai során észlelte, hogy a kapszaicin és a vanillin szerkezete hasonló.



9. ábra: *A kapszaicin molekulaszerkezete. Forrás:* [20].

1919-ben azonosították először a kapszaicin struktúráját (9. ábra). Az alkaloid kémiailag 8-metil-N-vanillyl-6-nonénamid. Színtelen, szagtalan kristályos vagy viaszos anyag. Stabil vegyület, mely hőhatásra nem sérül, nem bomlik. Kedvező biológiai hatásai miatt az azonosítását követően nagyszámú kutatás elkezdését ösztönözte. A hagyományos gyógyászatban régóta használják különböző krónikus ízületi fájdalmak csökkentésére, pl. reumatoid artritiszben, a cukorbetegség részeként megjelenő szenzoros neuropátiában, továbbá oldatos formában migrén és orrtünetek

kezelésében, fejfájás csökkentésére. Gyulladáscsökkentő hatása mellett kis dózisban védi a gyomor nyálkahártyát, fokozza a keringést.

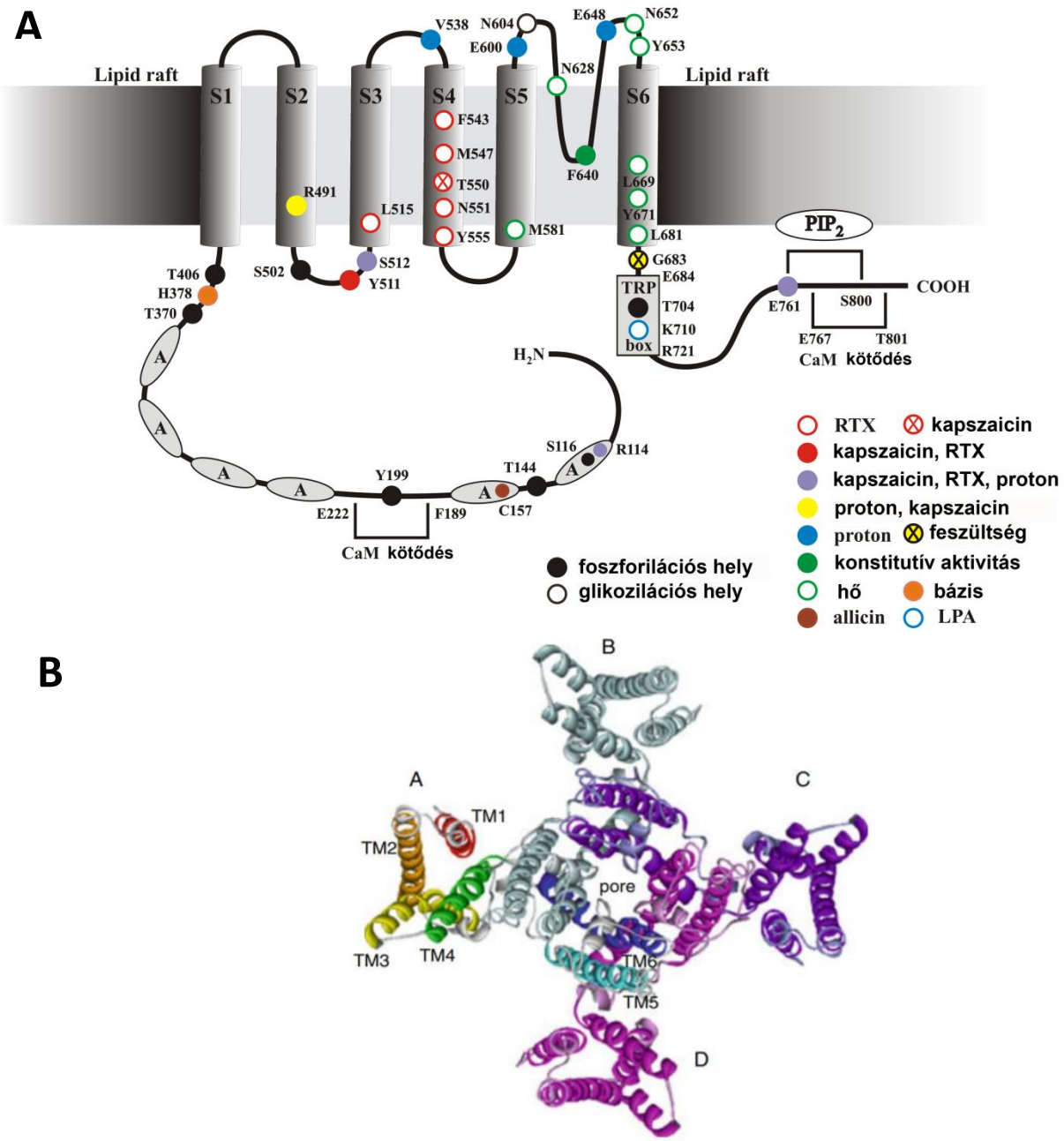
A Tranziens Receptor Potenciál (TRP) család

A TRP receptor szupercsalád egymáshoz hasonló szekvenciájú és struktúrájú, nem szelektív kation csatornák, melyek 7 alcsaládot alkotnak. Mindegyik család tagjára jellemző a 6 transzmembrán doménből alkotott tetramer szerkezet és a kálcium permeábilis pórus régió. A TRP proteint először a közönséges ecetmuslica (*Drosophilia melanogaster*) retinájából mutatták ki [21], majd emlős homológjának klónozása után TRPC1-nek nevezték el. Emlősökben megtalálható alcsaládjai a TRPC (klasszikus), TRPV (vanilloid), TRPM (melasztatin), TRPML (mukolipin), TRPP (policisztin), TRPA (ankyrin) [22]. Részt vesznek a termo-, mechano-, kemoszenzációban, mellyel hozzájárulnak a szervezet homeosztázisának fenntartásához [23].

A TRPV1 receptor

Az 1950-60-as években először Magyarországon tanulmányozták és mutatták ki sikeresen a kapszaicin fájdalomérzékelő idegrostokra kifejtett, szelektíven izgató hatását. Majd ezt követően magyar kutatók, Jancsó-Gábor Aranka és Szolcsányi János hipotetikusan is rámutattak arra, hogy a kapszaicin feltehetően specifikus receptoron keresztül fejti ki hatását [24]. A receptort az ún. „kapszaicin érzékeny idegsejteken” a spinális hátsó gyöki (DRG) és trigeminus, vagus ganglionjainak primer szenzoros neuronjaira lokalizálták [25]. Később az is kiderült, hogy más vanilloid vegyületek is képesek a kapszaicin által ismert hatást kiváltani, ilyen pl. egy kutyatejféléből (*Euphorbia resinifera*) izolált reziniferatoxin (RXT), vagy a borsban (*Piper nigrum*) levő piperin [26]. Az 1997-es évben sikerült klónozni a receptort, melyet a vanilloid struktúrát tartalmazó vegyületek aktiválhatósága miatt vanilloid 1 (VR1) receptornak neveztek el [27]. Az elnevezést később nemzetközi nomenklatúra alapján tranziens potenicál vanilloid 1-re (TRPV1) változatták. A receptor pontos szerkezetét a klónozást követően írták le, a receptor alegység 95 kDa nagyságú fehérje, 6 transzmembrán doménre és egy az 5. és 6. domént rövid hidrofób lánccal összekötött pórus részre osztható. Négy alegység feltehetően tetramer és/vagy heteromer formában alkot nem

szelektív kation (főleg kalcium) csatornát a membránban, melynek N- és C –terminális vége intracellulárisan helyezkedik el (10. ábra A. B.).



10. A ábra: TRPV1 alegység szerkezete és kötőhelyei. *A TRPV1 receptor alegység funkcionális szerkezete a kulcs aminosavak megjelölésével. Ábra forrása:* [28] ***S1-6:*** *transzmembrán domének;* ***A:*** *ankyrin ismétlődés domén;* ***TRP****: tranziens receptor potenciál domén, amely a TRP csatornákban konzervált szerkezetű, és a foszfatidil-inozitol-4,5-biszfoszfát (PIP$_2$) által történő*

aktiváláshoz szükséges; ***fekete kör****: foszforilációs helyek, amelyek a protein kináz C (PKC) és a protein kináz A (PKA) általi szenzitizáció hatóhelyei; LPA: lizofoszfatidsav.*

B. ábra: *Négy TRPV1 alegység (A-D) által alkotott funkcionális receptor-ioncsatorna komplex. A patkány TRPV1 tetramer szerkezetének modellje, az extracelluláris oldal felőli nézetben. A négy alegység (A, B, C, D) TM5 és TM6 transzmembrán hurokszerkezetű szakasza egy központi pórust alakít ki, amelyen keresztül történik a kationok beáramlása a sejtbe. Ábra forrása:* [29].

A fehérjemolekula aminosav régióinak pontosításával a receptor speciális funkciói kerültek felismerésre. A TRPV1-t a kapszaicinen kívül káros hőhatás (> 43 °C), savas pH (<6), gyulladás- és fájdalomkeltő vegyületek, bradykinin peptid, endogén lipid természetű vegyületek pl. endocannaboidok, lipooxigenáz termékek, mint a prosztaglandin E2, prosztaciklinek, és exogén vanilloidok aktiválnak. A kapszaicin lipofil tulajdonsága miatt átjut a sejtmembránon és a receptor intracelluláris részéhez kötődve izgatja a receptort. Az N és C terminálisban feltételezett protein kináz és kalmodulin kötőhelyeknek feltehetőleg szerepük van a TRPV1 receptor deszenzitizációjában.

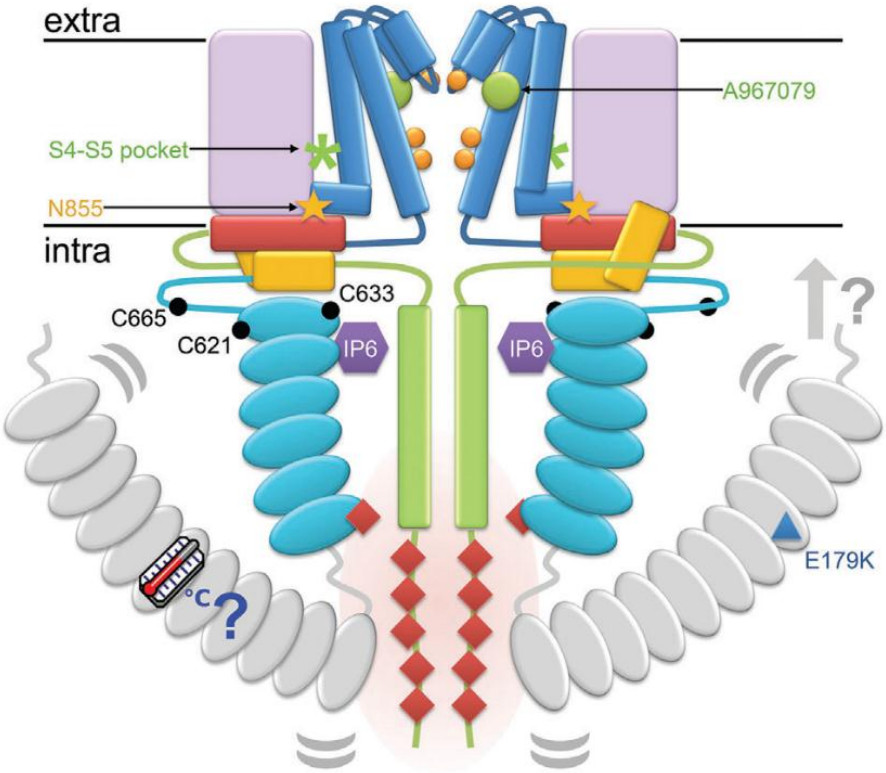
Az TRPV1 aktiválódásával Na^+ és Ca^{2+}-ion beáramlás, majd ezt követően K^+-ion kiáramlás történik a sejtben. A depolarizáció által generált akciós potenciál hatására az idegben érzőműködés és nocicepció keletkezik, következésképpen szenzoros hatásokat, mint a hőérzet, viszketés, fájdalom közvetít (afferentáció). Ezen kívül az kapszaicin érzékeny idegvégződésekből lokálisan főleg gyulladáskeltő, szenzoros neuropeptidek (neurokinin A, neurokinin B, P-anyag, kalcitonin-gén rokon peptid: CGRP) szabadulnak fel, az általuk közvetített gyulladáskeltő hatást lokális efferens funkciónak nevezzük. A perifériás végződésekből kiszabaduló molekulák vazodilatációt, permabilitás fokozódást, ennek következtében plazma kilépést és ödémát okoznak, továbbá serkentik a gyulladásos sejtek bevándorlását. A TRPV1 receptor által közvetített neurogén gyulladás számos betegség kialakulásának kutatási tárgyát képezi. Szerepét kimutatták asthma bronchialében, allergiás és idiopathiás rhinitisben, anafilaxiában [30], migrénben, gyulladásos bőr-és bélbetegségekben. Shim és mtsai TRPV1 knock-out egereken végzett vizsgálatai azt igazolták, hogy a hisztamin indukált viszketés TRPV1 aktivációval jár [31]. Figyelemre méltó az is, hogy a TRPV1 receptor aktiválódása során a gyulladásos mediátorok mellett antiinflammatorikus hatású

anyagok is felszabadulnak. A szenzoros idegvégződésekből kikerülő endomorfinok és szomatosztatin gyulladásgátló hatással bírnak, melyek bekerülnek a szisztémás keringésbe is (szenzokrin hatás). A gyulladásgátlás a szenzoros neuronok efferenseinek gátlásával és a proinflammatorikus neuropeptidek felszabadulásának blokkolásával jön létre [32].

A tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) a primer szenzoros neuronokon expresszálódik, mint az orrnyálkahártyát beidegző rostokon. Újabban TRPV1 receptorokat azonosítottak nem neuronális sejteken, epidermiszben és számos szerv epithéliumán, ahol a gyulladás kialakulásában és a termoszenzációban gondolják szerepét. A receptorok aktivációja humán immunsejteken például hízósejtek degranulációját serkenti, aktiválja a makrofágokat és a fagocitózist, a dendritikus sejtek védekező mechanizmusait, valamint a CD4+ T-limfocitákat. Emberi nyálkahártyában nem-neuronális TRPV1-t találtak normál nazális mucosa epithéliumon [33] és submucosus mirigyeken [34]. Itt a fokozott nyákszekréció kialakulásában és a gyulladásos betegségek patomechanizmusában feltételezik a receptor szerepét [30,35,36].

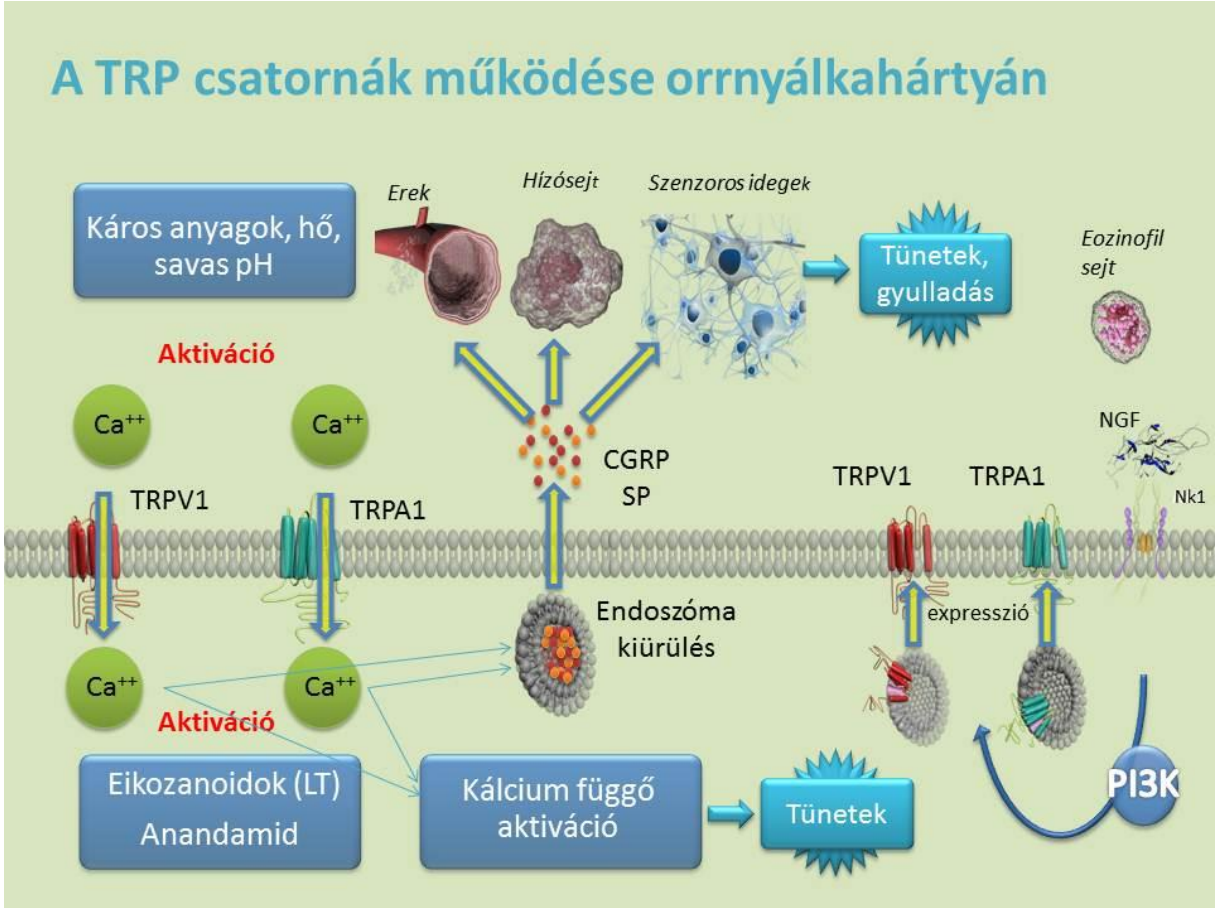
A TRPA1 receptor

A TRPV1-hez szerkezetileg és funkcionálisan is hasonló tranziens receptor potenciál ankyrin 1 (TRPA1) karakterisztikus jellemzője a N-terminusban előforduló magas számú ankyrin ismétlődés, amelynek feltételezett funkciója az ún. *gating*: csatorna nyitva és/vagy zárva tartása (11. ábra). A nem szelektív, de főként Ca^{2+} -ionra permeábilis csatorna aktiválódása után a neurogén gyulladás és fájdalomérzet kiváltásában és számos patofiziológia mechanizmusban van fontos szerepe.



11. ábra. *A TRPA1 receptor alegység sematikus szerkezete, amelyen az igazolt és feltételezett szabályozási pontok kerültek jelölésre. Türkizkék: ankyrin ismétlődések, citromsárga: összekötő (linker) elemek, lila: S1–S4, kék: S5–S6, narancssárga: a gating-ben résztvevő aminosavak, piros: TRP-domén helix, zöld: C-terminális, zöld kör: az antagonista A967079, zöld csillag: S4–S5 zseb. Ábra forrása:* [37]

A TRPA1 gyakran expresszálódik TRPV1 pozitív Aδ és C-típusú rostok egy alpopulációján (nervus vagus ganglion, trigeminális ganglion rostjai). Egyre inkább világos, hogy a két receptor funkciói egymással több területen is kapcsolódnak (12. ábra).



12. ábra: *A neuronális TRPV1 és TRPA1 receptorok működési mechanizmusa az orrnyálkahártyán. A TRP receptorok izgatásával kálciumfüggő aktiváció és endoszóma kiürülés jön létre, melynek hatására további gyulladásos sejtek aktivizálódnak és okozzák a gyulladásos tüneteket. Az eozinofilek által termelt idegi növekedési faktor (NGF) és foszfatidil-inozitol 3-kináz (PI3K) az endoszomális TRP csatornák megjelenését stimulálja. (Ábra forrása:* [30] *átdolgozva).*

Elsőnek tüdő fibroblast sejtvonalból izolálták, mégis sokáig csak bizonyos szenzoros rostokra korlátozták expresszióját és ennek megfelelően elsődleges funkcióját is. Nem-neuronális sejteken való előfordulása újabb vizsgálatoknak nyitott lehetőséget. Megfigyelték, hogy nem neuronális sejteken is általában együtt fordul elő a két receptor pl. keratinocitákon, makrofágokon, hízósejteken, monocitákon. A receptor károsító hideg és környezeti irritánsok, oxidatív stressz hatására aktiválódik, melynek következtében neurogén gyulladás jön létre [38,39]. Továbbá élelmiszerekben előforduló anyagok, fűszernövényekben és zöldségekben megtalálható illóolajok pl.

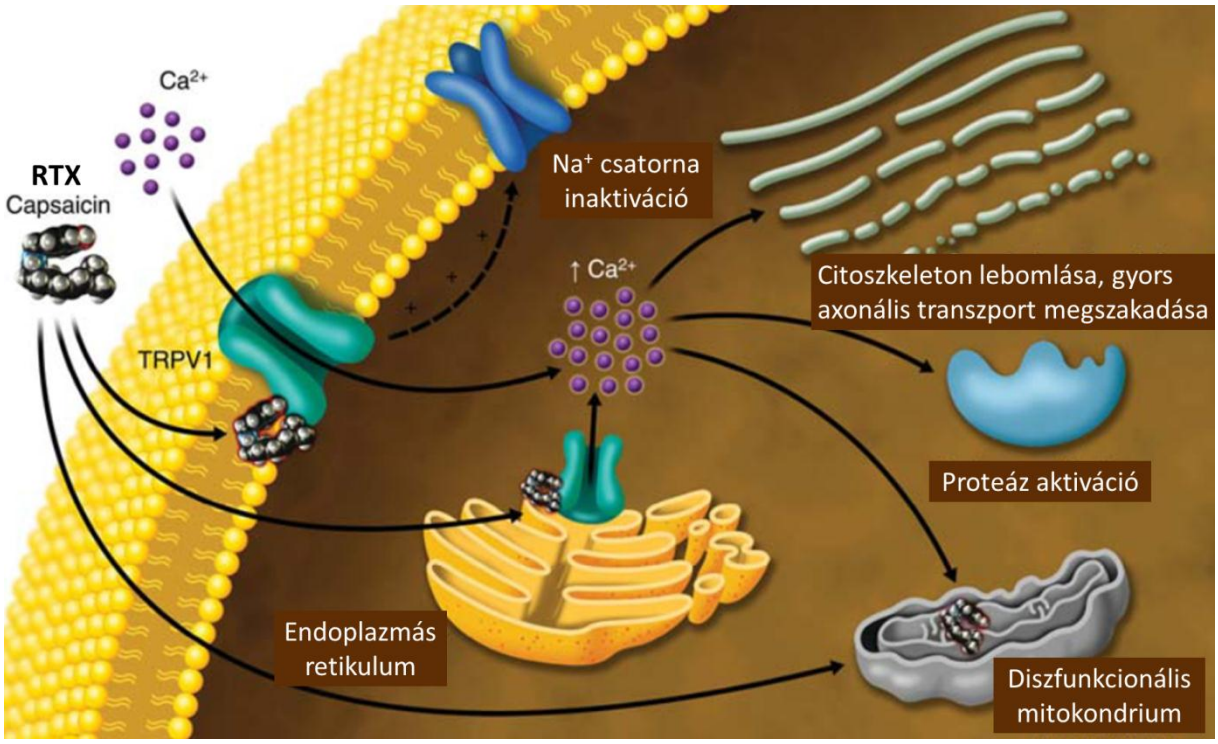
mustár, wasabi, oregano, fokhagyma, fahéj hatóanyagai is izgató hatással vannak a receptorra [40]. A TRPA1-nek fontos érzékelő szerepe van a légúti irritáció esetén, köhögésben és feltehetően a hideg levegő provokálta nem-allergiás-idiopathiás rhinitisben is [41–43]. Normál emberi orr epitheliumon funkcionális extraneuronális TRPA1 receptorok is jelen vannak [33]. Újabban kimutatták, hogy oralis lichen planusban a nem-neuronális TRPV1 és TRPA1 receptorkifejeződés megnövekedik [44,45].

Az orrnyálkahártya szenzoros neuronok TRPV1 és TRPA1 receptorainak kulcsfontosságú szerepét írták le a neurogén gyulladás, hiperreaktivitás és hisztamin-indukált viszketés közvetítésében (12. ábra). Azonban a nem-neuronális TRP funkciók még mindig nem teljesen tisztázottak.

A kapszaicin szerepe a rhinitisek, rhinosinusitisek kezelésében: deszenzibilizáció és denerválás

A felső légúti nyálkahártya gyulladásban elsődleges szerepe van a neurogén gyulladásnak, melyet elsősorban a szenzoros rostok stimulációja és a neuropeptidek felszabadulása jellemez, ami az ún. „orrtünetek” kialakulásának hátterében állhat [15,46–48]. A TRPV1 receptor hő- és káros hatásra aktivizálódik, melynek következtében lokális neurogén gyulladást, fájdalmat, viszketést és orrváladékozást okoz [33,49,50]. A TRPV1-nek szerepe van a vasomotoros, gustatorikus és idiopathiás rhinitis (IR) és a fájdalom kialakulásában is [51–53]. Van Gerven és mtsai IR-es betegekben végzett kapszaicin deszenzibilizációs vizsgálataiban kimutatták, hogy IR-ben a neurális TRPV1 recepor expressziója emelkedett [54].

A TRPV1 receptor agonista kapszaicin szelektíven izgatja, ismételt magas dózisban deszenzitizálja sőt reverzibilisen károsíthatja (denerváció) a szenzoros rostvégződések egy csoportját [25]. A deszenzibilizációval a teljes végződés hosszú távú funkcióvesztése, működéskiesése - denerváció - érhető el [55,56]. Ennek hátterében az ismételt nagymennyiségű Ca^{2+}-ion influx és a következményes intracelluláris koncentrációemelkedés bénító hatása, valamint a neuropeptid raktárak kiürülése áll (13. ábra).



13. ábra: *A deszenzibilizáció folyamata. Ábra forrása:* [57] *átdolgozva. RTX: reziniferatoxin.*

Ebből kiindulva a 2000-es évek elején számtalan tanulmány látott napvilágot, amivel azt próbálták igazolni, hogy az orrnyálkahártya krónikus gyulladásainak kezelésében a deszenzitizáció sikeres lehet. A kapszaicin kezeléssel próbálkoztak CRS-ben, allergiás és idiopathiás rhinitisben, valamint CRS posztoperatív kezelése során. Az eredmények nem egyértelműek és meggyőzőek. Orrpolipózisban alkalmazott kezelés csökkentette a tüneteket és a polipok méretét, azonban a hatása nem közelítette meg az evidencia alapú kezelések hatékonyságát, mint pl. az orális szteroid kezelést vagy FESS-t [58]. FESS utáni polip recidívában szenvedő betegeken végzett placebo kontrollált vizsgálatban szignifikánsan csökkent a polipok mérete [59]. Allergiás rhinitisben nem sikerült bizonyítani az intranazális kapszaicin terápia hatékonyságát [60].

A nem-allergiás rhinitisek (NAR), újabban idiopathiás rhinitis (IR) kialakulásának megismerése tette lehetővé a célzott kapszaicin terápia sikerességét. Vizsgálatokkal igazolták, hogy a tüneteket hiperaktív, noradrenerg, noncholinerg vagy peptiderg neurogén folyamat váltja ki, melyben a trigeminális szenzoros neuronokon levő TRPV1 receptorok szerepe kiemelkedő. Bár a mirigysejteken található nem neuronális TRPV1 pontos funkciója nem ismert, egyes kutatók feltételezik hogy a kapszaicin közvetlenül hatással lehet ezen receptorokra, így befolyásolja a szekretoros funkciót [34]. Az

idiopathiás rhinitisre jellemző, hogy nem dohányzó, 18 és 60 év közötti betegeket érint, akiknél nem bizonyítható allergia, sem CRS, nincs anatómiai elzáródás és az INCS terápia hatástalan. Tartós orrdugulás mellett vizes orrfolyásról számolnak be. Egy randomizált kettős vak vizsgálatban igazolták, hogy IR-ben a kapszaicin terápia hosszú távon csökkenti az orrtüneteket, az egynapos terápia veszélytelen és jól tolerálható [61].

A kapszaicin terápia kivitelezése:

A terápiás koncentrációjú kapszaicin az orrnyálkahártyán égő fájdalmat okoz, ezért alkalmazását helyi érzéstelenítésben végzik. Az érzéstelenítés módja felszíni érzéstelenítés, mely általában kokainos oldattal vagy annak származékaival (pl. tetracain) átitatott tampon orrüregbe történő behelyezését jelenti. Korábban elnyújtott formában, 3 vagy akár 5 egymást követő napon fokozatosan emelték az adagokat, manapság már egy nap leforgása alatt elérhető a telítő dózis. Nincs standard ajánlás, ám a leggyakrabban 0,1 mM/l-es töménységű spray-t alkalmaznak. 5 alkalommal óránként 0,3 ml oldatot juttatnak az orrba, érzéstelenítőt a 2. kezelés után már nem kell használni. A kezelés a későbbiekben ismételhető.

Az IR és a neurogén eredetű rhinitisek kapszaicin denervációs terápiája hazánkban a gyógyászati kapszaicin hiánya miatt sajnos egyelőre megoldatlan. A mindennapi használatban, vény nélkül elérhető, alacsony koncentrációjú oldatokkal (pl. Sinol orrspray), rövidtávú tünetcsökkenés elérhető, de tartós hatást nem váltanak ki.

II. CÉLKITŰZÉSEK

Általános bevezető

A CRS pontos pathomechanizmusa még ma is ismeretlen. A bizonytalanságok ellenére világosan látszik, hogy összetett funkciókárosodásról van szó, melyben az exogén károsító hatások mellett a szervezet elégtelen immunvédekező mechanizmusa, ennek következtében pedig a fokozott gyulladás megjelenése állhat. Az egymással konvergáló jelátviteli útvonalakban fontos része lehet a gyulladást közvetítő TRP receptoroknak, melynek vizsgálatára krónikus melléküreg gyulladásban ez idáig nem került sor. A bevezetőben részletezett, CRS körüli etiopatológiai bizonytalanságok és munkacsoportunk korábbi gyulladásos betegségekben elért nemzetközi eredményei arra ösztönöztek, hogy humán betegmintákon megvizsgáljuk, vajon a szenzoros neuronokon neurogén gyulladást közvetítő TRP receptorok jelen vannak-e nem neuronálisan, változik-e a receptor kifejeződése, ami utalhat arra, hogy hozzájárulnak a betegség pathogeneziséhez.

A vizsgálattal szemben állított célkitűzések:

1. Munkánk célja volt, hogy orrpolipózisban kimutassuk az extraneuronális TRPV1 és TRPA1 csatornák génexpresszió változását egészséges orrnyálkahártyával összehasonlítva.
2. Immunhisztokémiai festés segítségével meghatározzuk a TRPV1 és TRPA1 receptorok helyét orrpolipózisban.
3. Az orrpolipos betegek citokin-mintázatának elemzése és a TRP receptorok expressziójával való összevetése.
4. A fenti eredményeink alapján asztmás, allergiás orrpolipos beteg alcsoport részletesebb tanulmányozása.

III. ANYAG ÉS MÓDSZER

Etikai engedélyezés

Írott beleegyező nyilatkozatot tett minden beteg a beavatkozás előtt. A vizsgálatot a Pécsi Tudományegyetem Orvosi Kar regionális etikai bizottsága engedélyezte (engedélyszám: 3746.316340/2010).

Beteg

A vizsgálatba orrpolipos (CRSwNP) betegeket és az egészséges alanyokat válogattunk be a Pécsi Tudományegyetem Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika betegeiből 2010-2012 közt. A diagnózist a klinikai tünetek, endoszkópos lelet és a CT felvételek alapján állítottuk fel az európai szakmai ajánlás (EPOS2012) által definiált, szigorú CRS kritériumrendszer alapján. Minden beteg hosszú távú INCS kezelésben részesült, mely hatástalannak bizonyult, ezért műtétre került sor. Az első csoportban 33 CRSwNP betegből vettünk polipmintát rutin endoszkópos melléküreg műtét (FESS) során. 18-70 év közötti betegeket választottunk be, közülük 17 nő és 16 férfi volt, majd alcsoportokba soroltuk őket a klinikai komorbiditás alapján: allergiás rhinitis és/vagy asztma. Az allergiás rhinitist a pozitív Prick-teszt és a klinikai tünetek, az asztmát a pulmonológiai szakvélemény igazolta. 10 kontrollmintát vettünk olyan egészséges egyénekből, akiknél nem volt igazolható felsőlégúti gyulladás vagy melléküreg betegség, ezekből 4 nő és 6 férfi beteg volt. A mintákat az alsó kagylóból vettük rutin orrsövény műtét vagy alsó kagyló műtét során. A második csoportba 9 új beteget választottunk be asztmával kísért, krónikus orrpolipózissal, valamint 6 kontroll beteget. A betegcsoportok jellemzői az 1. és 2. táblázatban láthatók.

Betegcsoport#1	Elemszám	Átlagéletkor	Nő	Férfi	Dohányzás
NP As-AR-	14	50.3	5	9	5
NP AR+	7	46.0	3	4	3
NP As+	2	50.5	1	1	2
NP As+AR+	10	57.3	8	2	1
összes NP	33	51.0	17	16	10
egészséges kontroll	10	45.0	4	6	0

1. táblázat: Első betegcsoport jellemzői. **összes NP**: összes orrpolipos beteg, alcsoportjai: **NP As-AR-**: orrpolipózis asztma és allergiás rhinitis nélkül, **NP AR+**: orrpolipózis allergiás rhinitissel, **NP As+**: orrpolipózis asztmával, **NP As+AR+**: orrpolipózis allergiás rhinitissel és asztmával

Betegcsoport #2	Elemszám	Átlagéletkor	Nő	Férfi
egészséges kontroll	6	48,2	3	3
NP+AS	9	59,1	4	5
Összesen	17	53,6	7	8

2. táblázat: Második betegcsoport jellemzői**. NP+AS**: orrpolipózis asztmával

A feldolgozott szövettani leletek alapján kétféle endotípust különböztettünk meg: a gyulladásos és a „remodelling" típust, mely megfelelt a szakirodalomban találtaknak [3]. Vizsgálatunkban 40 betegnél gyulladásos típusú, eozinofil domináns és 2 betegnél remodelling típusú, fibroblaszttal teli szövettani leletet találtunk.

Mintavétel

A kimetszett szövetmintát 3 darabba vágtuk. Az egyik részt RNA laterbe (RNS bomlást gátló folyadékba) (kat.sz.: R0901, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) helyeztük, a másodikat friss fagyasztott mintának készítettük el és -80°C-on tároltuk. A harmadik részt 4%-os paraformaldehidben fixáltuk, majd paraffinba ágyaztuk az immunohisztokémiai feldolgozáshoz.

Immunhisztokémia

Metilált Giemsa (M&G) festés segítségével elemeztük a szövetmintákban lévő hízósejteket (MC), polimorfonukleoláris sejteket (PMN), eozinofil sejteket (EO) és plazma sejteket. A Giemsa oldatban (20 ml Giemsa festék, 80 ml dH_2O) 20 percig szobahőmérsékleten, majd a metiláló oldatban (99 ml metanol, 1 ml 36% hidroklorid) 20 percig 56°C-on inkubáltuk a deparaffinált és rehidrált szövetmintákat. A differenciáló folyadék (200 µl cc. ecetsav 100 ml dH_2O-ben) után 96%-os etanollal öblítettük, majd xilollal mostuk a mintákat 3x5 percig. A metszeteket Pertex fedőanyaggal fedtük (Histolab Products AB, Västra Frölunda, Sweden). Ezután Pannoramic eszköz segítségével (3D Histech Ltd., Budapest, Magyarország) segítségével szkenneltük be a számítógépre. Ezt követően a fedőlemezeket újra eltávolítottuk (xilol 56 °C-on elválásig majd 5 percig mosás 96% etanolban), majd Leica Bond Max automata festékkel (Leica Biosystems, Wetzlar, Németország) végeztük az immunohisztokémiai festést a következő fő lépések szerint. A szövetmintákat pH 6-on citrátpufferben inkubáltuk 20 percig antigénfeltárás céljából. A szövetek endogén

peroxidáz aktivitását 20 perces 3%-os hidrogén-peroxidban (H_2O_2) való inkubációval gátoltuk. Az immunfestés vagy anti-TRPV1 (1:300; kat. sz.: GP14100, Neuromics, Edina, MN, USA) vagy anti-TRPA1 (1:250; kat. sz.: ARP35205-P050; Aviva Systems Biology, San Diego, CA, USA) poliklonális nyúl elsődleges antitesttel történt 15 percig. A metszeteket 37°C-on 20 percig inkubáltuk (Bond Polimer Detection Kit) másodlagos anti-nyúl poli-HRP-IgG-nal (HRP: tormaperoxidáz). Végül a TRPV1 receptorok immunlokalizációját diamino-benzidinnel (DAB) hívtuk elő 10 percig, magfestést hematoxilinnal végeztünk. A metszeteket újra befedtük fedőlemezzel, és újból beszkenneltük a Pannoramic eszköz segítségével. Az így kapott digitális felvételeket a Pannoramic Viewer 1.15 virtuális mikroszkóp szoftver segítségével elemeztük. A szövettani vizsgálatok elemzését, a sejtek morfológiáját és az immunopozitív sejtek azonosítását tapasztalt patológus végezte.

Kvantitatív valós idejű PCR (qRT-PCR)

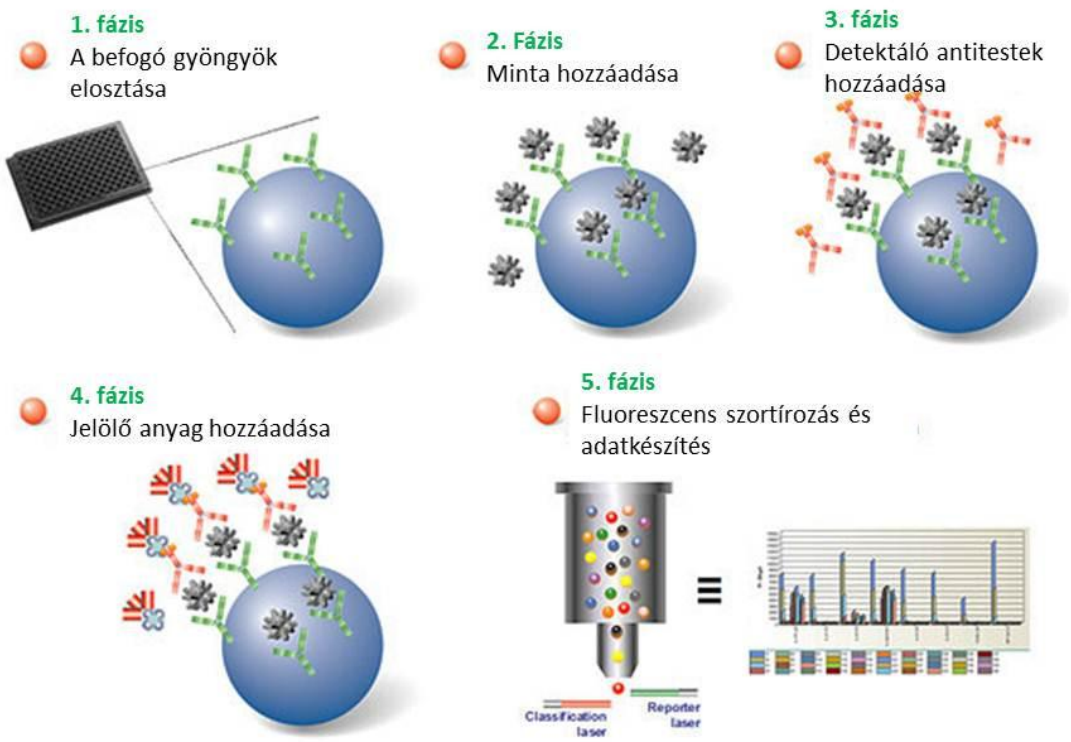
A teljes RNS tisztítását egészen a vizes fázisig a TRI reagens gyártó (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA) protokollja szerint végeztük. Röviden, a mintákat 1 ml TRI reagensben homogenizáltuk majd 200 µl bróm-3-klórpropán (BCP) oldatot adtunk az elegyhez. (Molecular Research Center, Inc.). Az RNS-t a vizes fázisból a Direct-zol RNA MiniPrep kit segítségével (kat. sz. R2052; Zymo Research, Irvine, CA, USA) a gyártó által előírt protokoll szerint tisztítottuk: 400 µl vizes fázishoz 400 µl abszolút etanolt adtunk, az elegyet az oszlopra mértük, majd mosási lépések után 50 µl RNáz mentes vízben eluáltuk. A kinyert totál RNS tisztaságát és mennyiségét Nanodrop ND-1000 spektrofotométer V3.5 (Nano-Drop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA) segítségével állapítottuk meg. 500 ng RNS átírása Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (kat. sz. K1642, ThermoScientific, Santa Clara, CA, USA) segítéségével a gyártó utasítása szerint történt. A PCR amplifikációt a Stratagene Mx3000P qPCR készülékkel (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), SensiFast Probe/SYBR Lo-ROX Kit (kat. sz BIO-84020/BIO-94020) segítségével végeztük. A primerek és a próba részleteit a függelékben mutatjuk be.

Négy referenciagén tesztelését követően a RefFinder webes eszköz [62,63] használatával a gliceraldehid 3-fosztfát dehidrogenáz /GAPDH/, hipoxantin foszforiboziltranszferáz 1 /HPRT1/, béta-aktin /ACTB/ és béta-gükuronidáz /GUSB/)

közül a HPRT1 és a GAPDH bizonyult a legmegbízhatóbbak, ezek C_t értékeinek mértani közepét alkalmaztuk.

Luminex Multiplex Immunassay

A kimetszett és -80°C-on tárolt polipos szövetmintákat a mérés megkezdése előtt kiolvasztottuk, lemértük a tömegüket, és azonnal 450 µl proteáz inhibitort tartalmazó Procarta Cell Lysis Buffer oldatba helyeztük (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA), majd homogenizáltuk (TissueLyser II bead mill system, kat. sz. 85300, Qiagen, Hilden, Germany). A mintákat 2000x g, 20 perc, +4 °C-on centrifugáltuk a sejttörmelék eltávolításához, a felülúszót a további elemzéshez összegyűjtöttük. A Procarta Immunoassayt (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) Luminex technológia szerint hajtottuk végre. Az alábbi citokineket/kemokineket határoztuk meg: interferon gamma (IFNγ) interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5) and interleukin 8 (IL-8, CXCL8). A mérést a gyártó utasításainak megfelelően végeztük el. Előzetes optimalizálást követően a mintákat hígítás nélkül, vakon mértük le. Luminex 100 készüléket használtunk és Luminex 100 IS szoftverrel analizáltuk a gyöngyök medián fluoreszcens intenzitásértékeit. A mintákat RPMI-1640 (GIBCO) oldatban (1% proteáz inhibitor keveréket tartalmazott) homogenizáltuk, a mintákat 25 mg/ml koncentrációban mértük le, duplikátumban. Minden minta, kontroll vagy standard 25 µl-ét 96 lyukú lemezre (a kit része) mértük, 25 µl antitesttel borított, fluoreszcens gyönggyel együtt. Biotinilált másodlagos antitestet és streptavidin-PE-t adtunk a lemezre, a megfelelő inkubációs és mosási lépések után. Az utolsó mosási lépés után 100 µl puffert adtunk minden egyes well-be; a lemezt a Luminex100 array reader készülékben inkubáltuk és olvastuk le, majd öt-PL regressziós görbe segítségével ábrázoltuk a standard görbét. Az adatokat MasterPlex szoftver segítségével elemeztük. A végeredményt pg/g nedves szövet formában adtuk meg (14. ábra).



14.ábra: *Luminex immunassay módszer bemutatása. Forrás:* [64] *(átdolgozva).*

Statisztikai módszerek

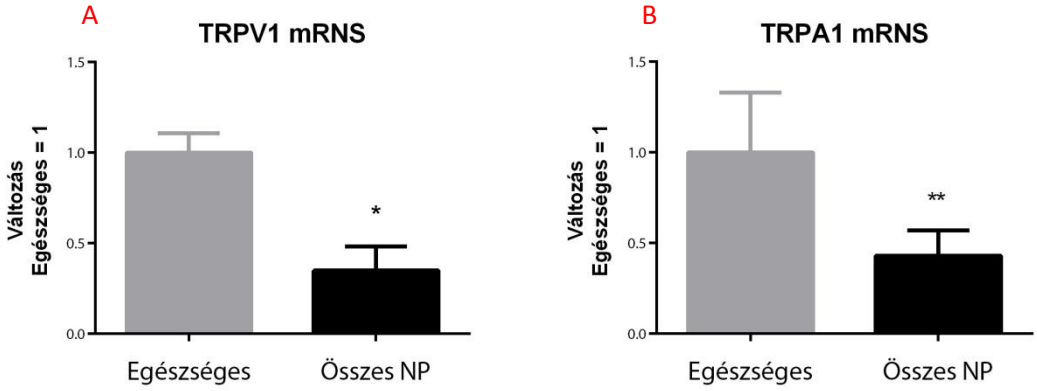
Az mRNS eredmények kiértékelése páratlan t-teszt, vagy egyutas variancia analízis (ANOVA) és Tukey-féle többszörös összehasonlító teszt segítségével történt. A citokin fehérje adatokat Mann–Whitney teszt vagy Kruskall-Wallis és Dunn-féle többszörös összehasonlító teszttel elemeztük. Valószínűség értéknek: $P < 0.05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak. Az eredményeket átlag±átlag standard hibája (SEM) formában fejeztük ki és ábrázoltuk hibavonalakkal (*error bar*). Az mRNS változás (*fold change*) értékek kettes alapú logaritmusát vettük és tovább elemeztük hierarchikus klaszteranalízissel, amelynek eredményét hőtérképen vizualizáltuk (Morpheus webes eszköz, Broad Institute, Cambridge, MA, USA). A $\log_2$ transzformált mRNS változások közötti korrelációt is vizsgáltuk (biweight mid-correlation algoritmus, R programozási nyelv 3.2.3 verzió, *bicor* function, WGCNA R csomag). A korrelációs koefficiens (r) értékeket hőtérképen vizualizáltuk (Morpheus).

IV. EREDMÉNYEK

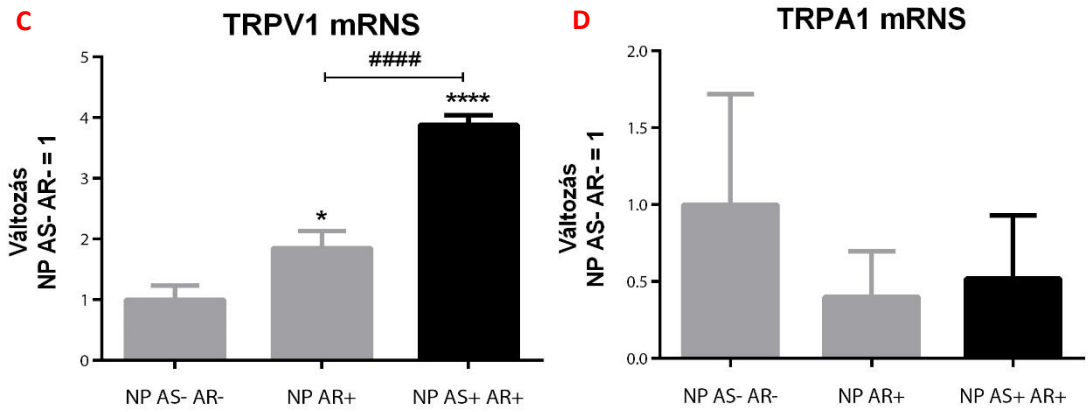
TRP mRNS expresszió

Kvantitatív RT-PCR technikával mind a TRPV1 és a TRPA1 mRNS megfigyelhető volt orrpolipban és normál orrnyálkahártyában is. Az első betegcsoportban a beteg mintákban mért TRPV1 és TRPA1 mRNS szintek szignifikánsan, 0,35 és 0,43 szorosával csökkentek a normál nyálkahártyában mértekhez képest (15.a ábra A-B). Ha a TRP mRNS mennyiséget az orrpolipos betegek - a komorbiditások szerint felosztott-alcsoportjaival vetettük össze, akkor szignifikáns TRPV1 emelkedést észleltünk az allergiás (1,9x) és az allergiás, asztmás (3,9x) betegcsoportban (15.b ábra C-D) komorbiditással nem rendelkező orrpolipos betegekhez képest, mely utóbbi csoport a viszonyítási alapot képezte. A TRPA1 értékei ellenben nem változtak szignifikáns mértékben az alcsoportokhoz képest.

Csak asztmás orrpolipos betegekben 6,3 szoros volt az átírt TRPV1 mRNS szintjének emelkedése, de az alacsony mintaszám (n=2) miatt az ábrán nem jelöltük.



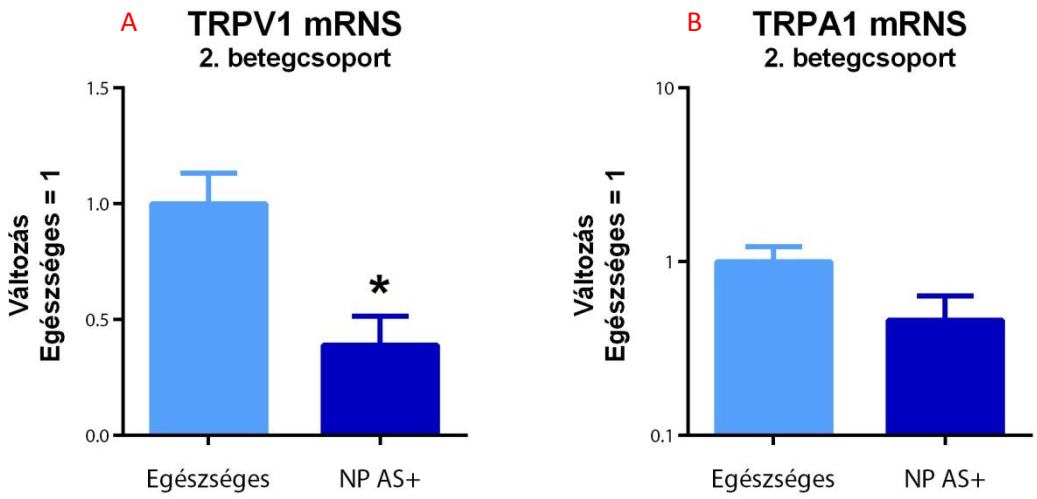
15.a ábra: *Az **A és B ábrán** az összes polipos betegben mért TRPV1 és TRPA1 mRNS expressziója látható egészséges kontrollhoz viszonyítva. A fekete oszlopban az orrpolipos a szürke oszlopban az egészséges kontroll minták humán TRPV1 és TRPA1 mRNS expresszióját jelöltük.*



15.b. ábra: *A **C és D ábrán** feltüntetett mRNS értékeket az általunk, komorbiditások alapján felosztott alcsoportok szerint jelöltük. A viszonyítási alapként kiválasztott csoportban orrpolipózis mellett sem asztma sem allergiás rhinitis nem szerepelt. A fekete oszlopban az asztmás és allergiás orrpolipos **(NP As+AR+)**, míg szürke oszlopban a csak allergiás **(NP AR+)** és komorbiditás nélküli orrpolipos **(NP AS-AR-: viszonyítási csoport)** minták TRPV1 és TRPA1 mRNS expressziókat ábrázoltuk.*

** p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; ***p ≤ 0,001; ****p ≤ 0,0001 vs. NP AS-AR csoport; #### p ≤ 0,0001.*

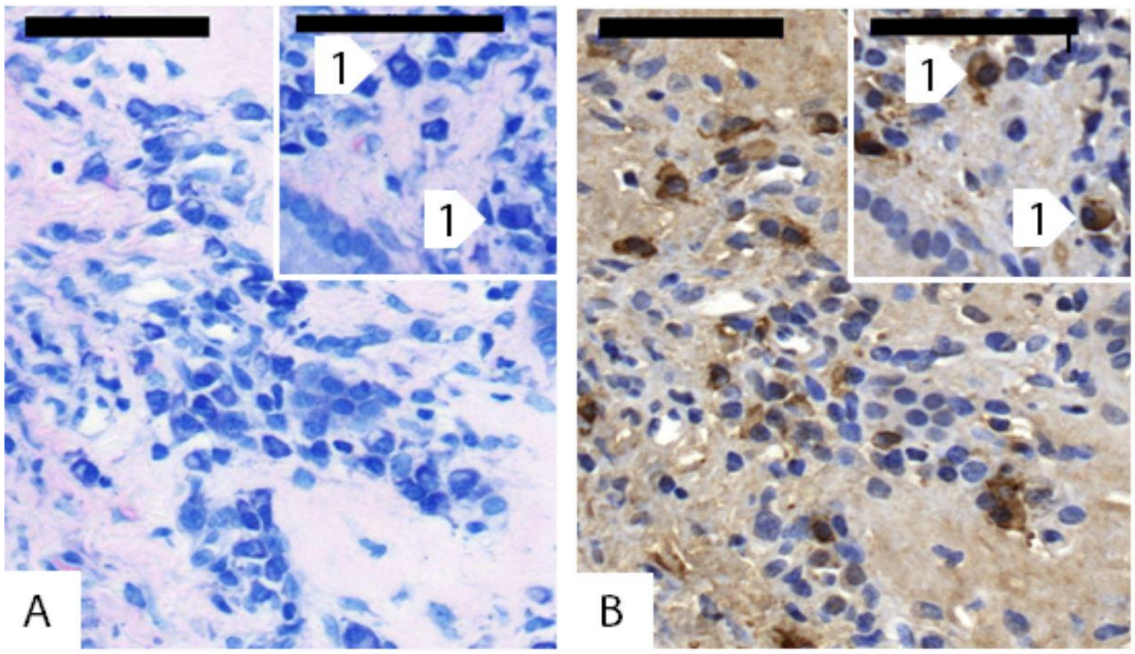
A második, asztmás orrpolipos betegcsoportban a TRPV1 és TRPA1 mRNS szintek, hasonlóan az első betegcsoporthoz, jelentősen csökkentek a kontrollhoz képest (16. ábra).



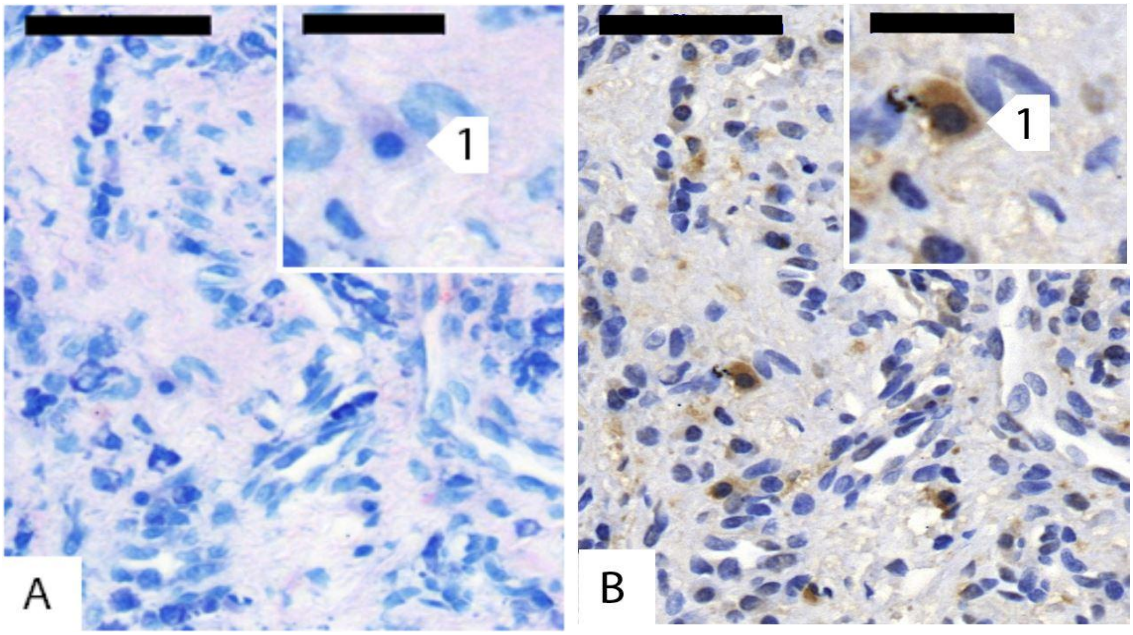
16. ábra: A második betegcsoport humán *TRPV1 (A) és TRPA1 (B) mRNS expresszió változása asztmás orrpolipos mintákban egészséges kontrollhoz viszonyítva.* ***NP+AS****: asztmás-orrpolipos minták értékei. * p ≤ 0,05.*

A TRPV1 és TRPA1 receptorok szöveti azonosítása, immunohisztokémiai eredmények

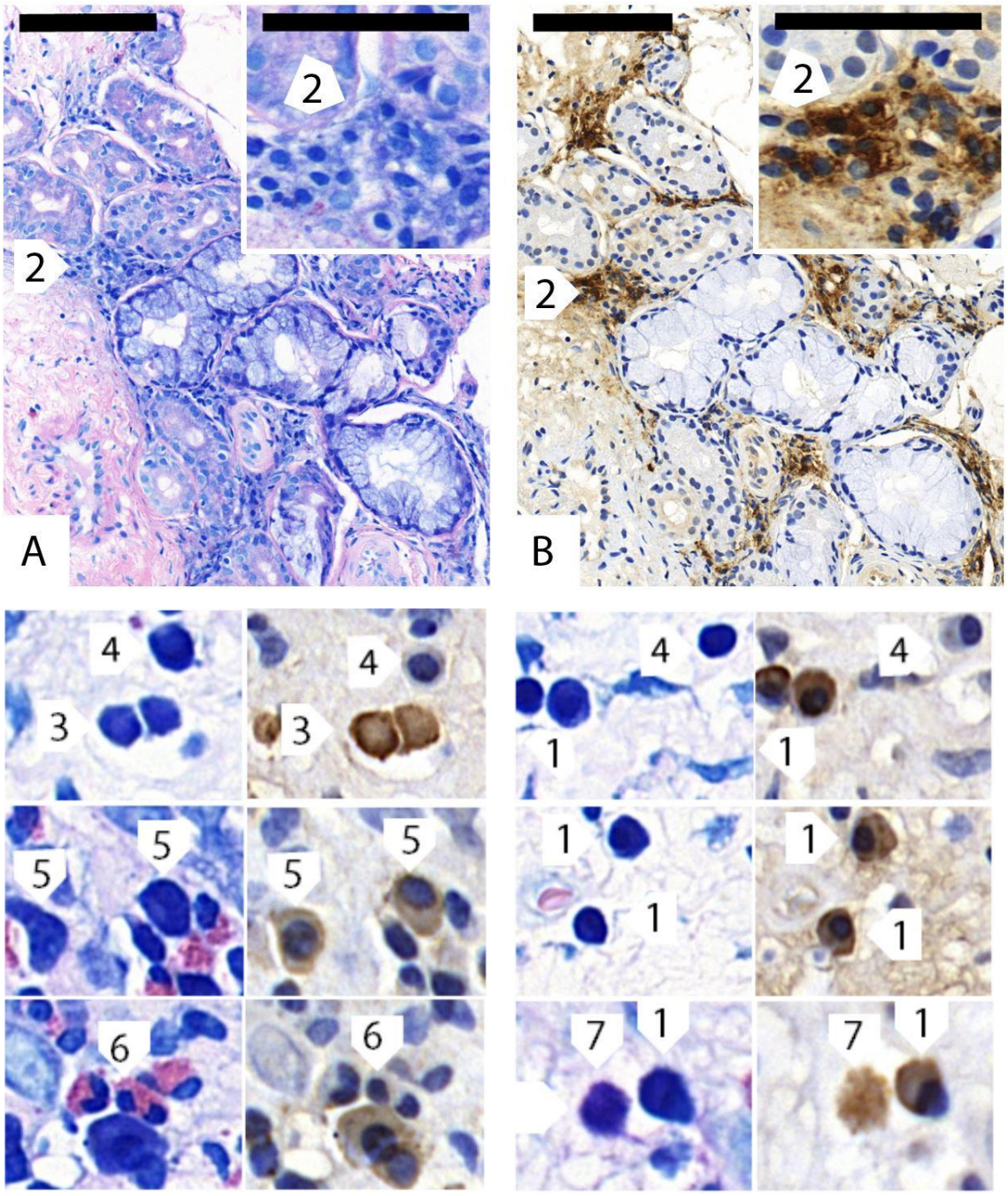
A sejtek struktúráját és a szöveten belüli eloszlását metilált giemsa festéssel mutattuk ki minden szövetmintában. Normál orrnyálkahártyán néhány plazmasejt, kis számban hízósejt és limfocita volt látható a sztrómában. TRPV1 pozitív plazmasejtek és TRPA1 pozitív makrofág sejtek elszórtan voltak jelen a mintákban. (17. A-B ábra, 18. A-B ábra)



17. ábra: *Normál orrnyálkahártya metszet metilált Giemsa festéssel (A) és TRPV1 specifikus immunfestéssel (B). 400x nagyítás, mérték 50 µm, kis kép 600x nagyításban.* ***1.*** *TRPV1 pozitív plazmasejtek.*



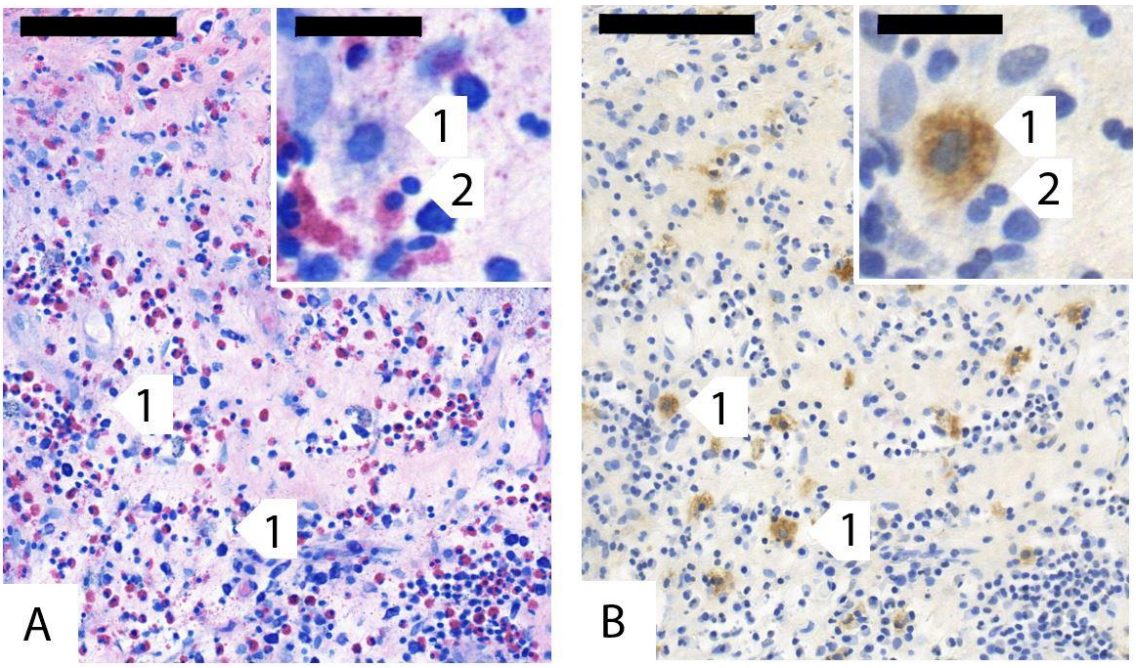
18. ábra: *Normál orrnyálkahártya metszet metilált Giemsa festéssel (A) és TRPA1 specifikus immunfestéssel (B). 400x nagyítás, mérték 50 µm, kis kép 800x nagyításban, mérték 20 µm.* ***1.*** *TRPA1 pozitív makrofágok.*



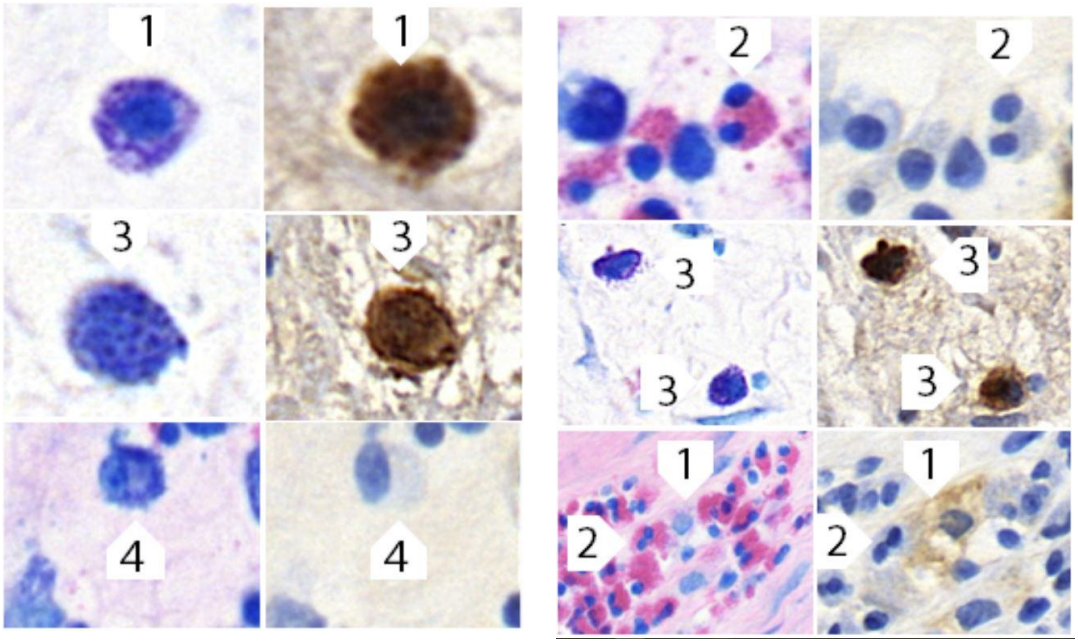
19. ábra: *Asztmás, allergiás orrpolipos minta metilált Giemsa festéssel (A) és* ***TRPV1*** *specifikus immunfestéssel (B). 200x nagyítás, mérték 100 µm, kis kép 600x nagyításban, mérték 20 µm.*

1. *TRPV1 pozitív plazmasejtek, 2. TRPV1 plazmasejtek, főleg periglandularisan, kevés más limfocita mellett, 3. TRPV1 pozitív limfocita (nem plazmasejtes), 4. TRPV1 negatív plazmasejt, 5. TRPV1 pozitív makrofág, 6. TRPV1 negatív eozinofil granulocita, 7. TRPV1 pozitív hízósejt.*

Orrpolipózisban intenzív TRPV1 immunpozitivitás igazolódott periglandularisan és a mirigyek közti sejteken, valamint a seromucosus mirigyek körül, melyek túlnyomó részt plazma sejteknek, hízósejteknek és kisebb számban limfocitáknak feleltek meg (19. A-B ábra). A polipokban ödémás, duzzadt sztróma mellett masszív gyulladásos sejtbeáramlás volt látható, melyek plazmasejteknek, hízósejteknek és eozinofil sejteknek feleltek meg. Az orrpolipos mintákban a legszembetűnőbb TRPV1 jelölődést a plazmasejteken detektáltuk, azonban ezeknek is csak egy alcsoportja festődött pozitívan minden mintában. A hízósejteken és a makrofágokon észlelt TRPV1 pozitivitás kevésbé volt erőteljes. Az eozinofil és sztróma sejtek egyike sem mutatott TRPV1 immunpozitivitást. A makrofágok és hízósejtek egy csoportja TPRA1 immunpozitív reakciót adott, de az eozinofil sejtek nem festődtek. Nem tudtuk kimutatni a TRPA1 jelenlétét plazmasejten és limfocitákon (20. a.b. ábra).



20.a ábra: Asztmás, allergiás orrpolipos metszetek metilált Giemsa festéssel (A) és **TRPA1** specifikus immunfestéssel (B). *200x nagyítás, mérték 100 µm kis kép 800x nagyításban, mérték 20 µm. 1. TRPA1 pozitív makrofág, 2. TRPA1 negatív eozinofil granulocita.*



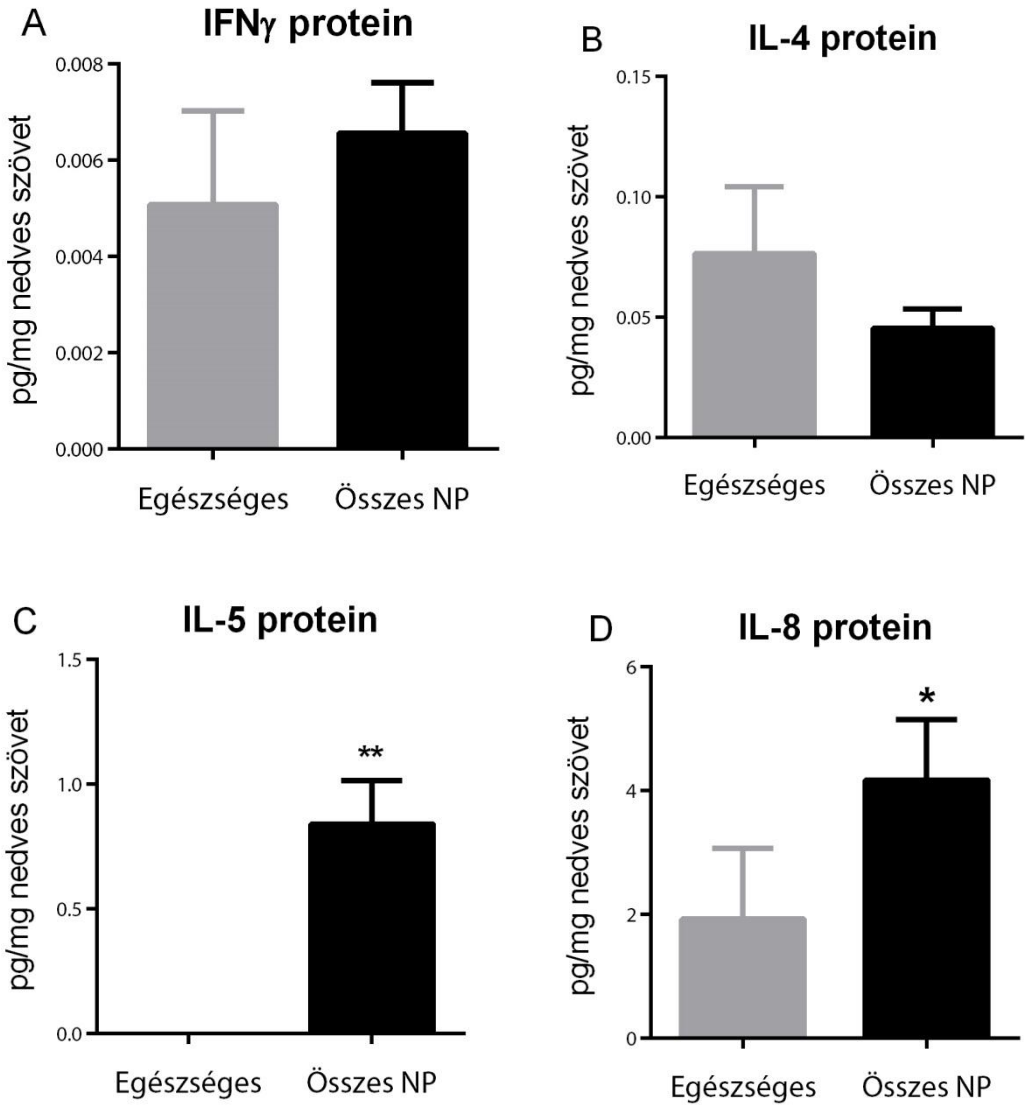
20.b ábra: Asztmás, allergiás orrpolipos metszetek metilált Giemsa festéssel és **TRPA1** specifikus immunfestéssel. *800x nagyításban, mérték 20 µm. 1. TRPA1 pozitív makrofág, 2. TRPA1 negatív eozinofil granulocita, 3. TRPA1 pozitív hízósejt, 4. TRPA1 negatív plazmasejt.*

Citokinmintázat

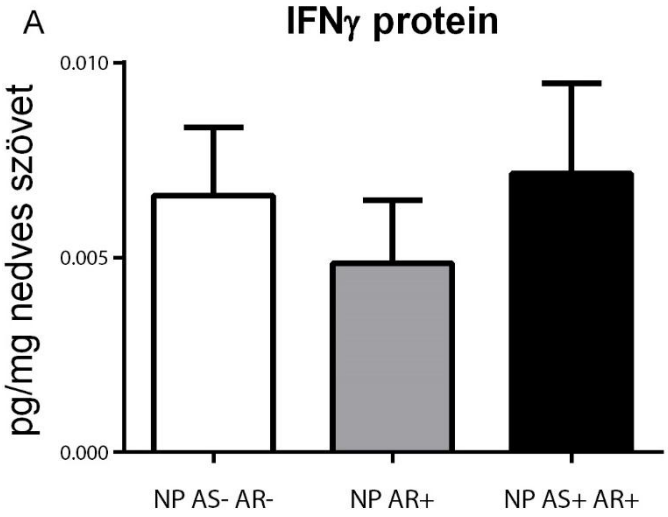
A homogenizált orrpolipos szövetminták első csoportjában interleukin-4 (IL-4), IL-5, IL-8 és interferon gamma (IFNγ) fehérje szinteket mértünk (21. ábra 1. A-D).

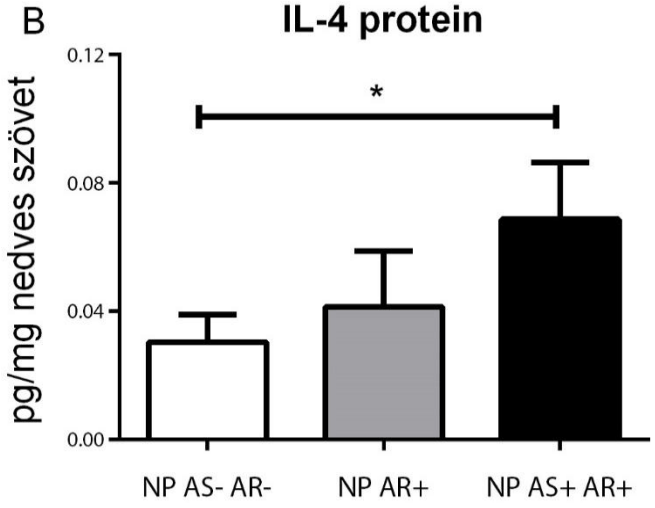
Orrpolipózisban az egészséges kontrollcsoporthoz képest (21. ábra) az IFNγ és az IL-4 fehérje szintje nem változott. IL-5 fehérjét nem találtunk a kontrollmintákban, szemben a polipos mintákkal. Az IL-8 fehérje mennyisége szignifikánsan megemelkedett 2,2-szeresére, (4,2 pg/mg-ra).

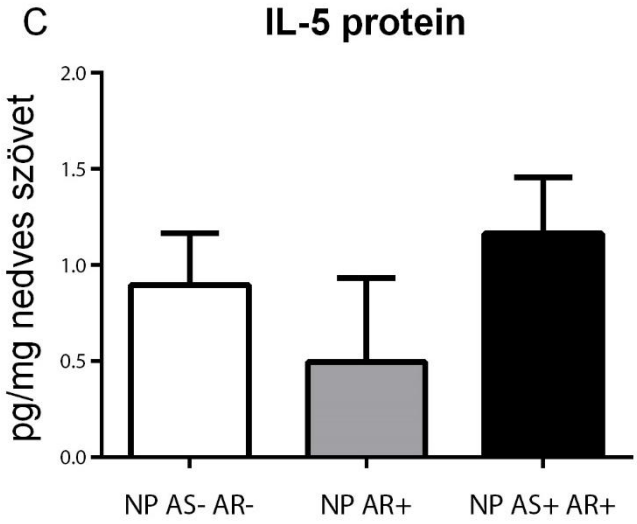
A betegeken belül a komorbiditás szerint felosztott alcsoportok értékeit egymással összevetve (22. ábra) azt találtuk, hogy csak az IL-4 szintje változott szignifikánsan: 2,3 szorosára (0,070 pg/mg) emelkedett az asztmás, allergiás betegcsoportban azon orrpolipos betegekhez képest, akiknél nem volt komorbiditás.

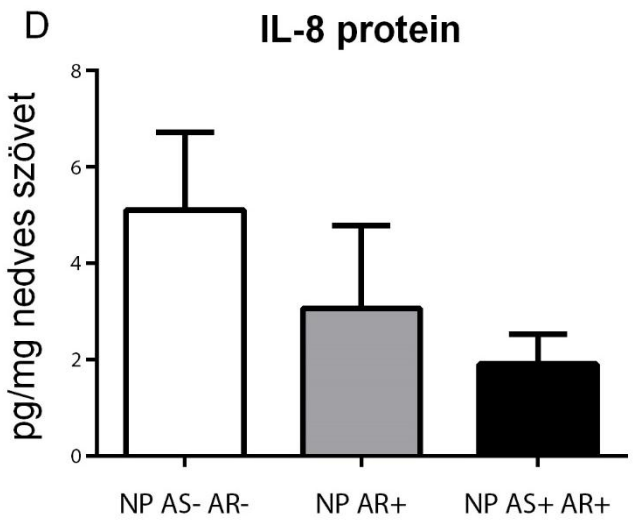


21. ábra. *Az IFNγ és interleukin-4, 5, 8 fehérjék mennyisége fekete oszlopban, egészséges kontroll minták szürke oszlopban jelölve. * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,001.*


A
IFNγ protein
pg/mg nedves szövet
0.010
0.005
0.000
NP AS- AR-
NP AR+
NP AS+ AR+


B
IL-4 protein
pg/mg nedves szövet
0.12
0.08
0.04
0.00
*
NP AS- AR-
NP AR+
NP AS+ AR+


C
IL-5 protein
pg/mg nedves szövet
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
NP AS- AR-
NP AR+
NP AS+ AR+

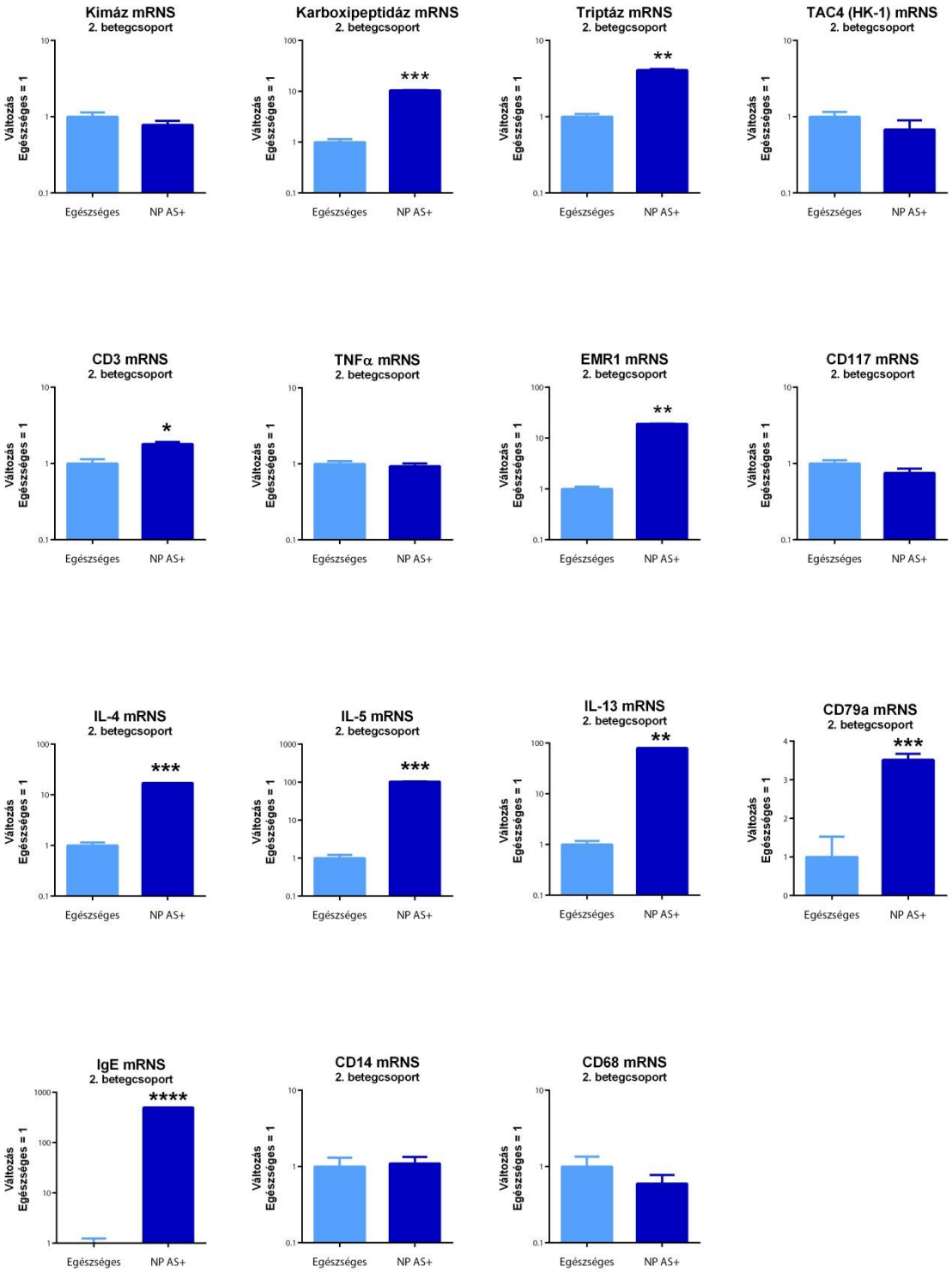


22. ábra: *Az IL-4, 5, 8 és IFNγ fehérjék mennyisége pg/mg nedves szövetben megadva. A szürke oszlopban viszonyításként a nem asztmás, nem allergiás, komorbiditás nélküli orrpolipos mintákat* ***(NP As-AR-)*** *jelöltük, fekete oszlopban az orrpolipózis komorbiditás szerinti két alcsoportját:* ***NP AR+****: orrpolipózis allergiával;* ***NP AS+AR+:*** *orrpolipózis asztmával és allergiával. * p ≤ 0,05;*

A NP AS+ (orrpolipózis asztmával) csoport eredményeit nem mutatjuk az alacsony elemszám (n=2) miatt.

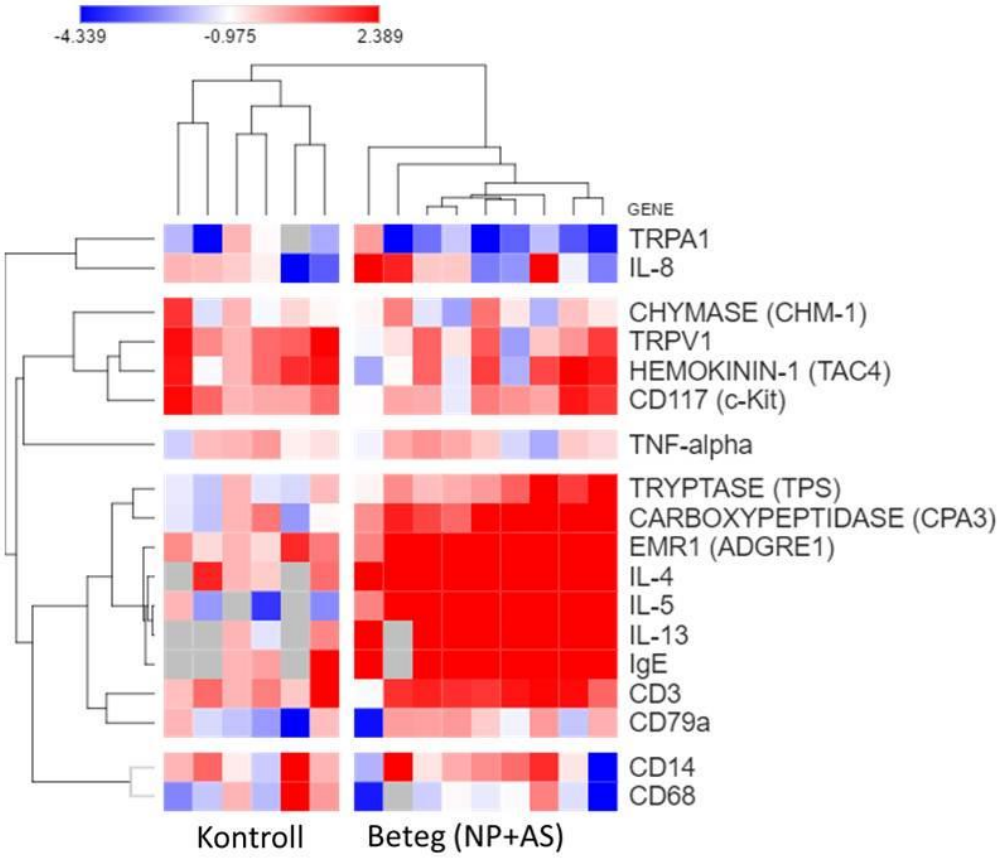
A gyulladásos markergének és a TRPV1/TRPA1 korrelációja

A második betegcsoport mintáiban 15 gyulladásos jelátvivő anyag vagy sejtmarker transzkriptumait vizsgáltuk. Kilenc gén kifejeződése emelkedett, míg hat változatlan maradt az asztmás orrpolipos mintákban, mely illeszkedik a klinikai képhez – feno-és endotípushoz- és a patológiai diagnózishoz. Részletesen megvizsgáltuk a TRPV1 és TRPA1 valamint a 15 gyulladásos mediátor/sejtmarker mRNS változását (23. ábra).



23. ábra: *15 gyulladásos mediátor ill. sejtmarker mRNS változása a 2. betegcsoportban. Világoskék oszlop a egészséges kontroll, sötétkék oszlop az asztmás-orrpolipos minták* ***(NP AS+)*** *értékeit mutatja. * p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01; ***p ≤ 0,001; ****p ≤ 0,0001.*

A második betegcsoport (NP As+: orrpolipózis komorbid asztmával) és a kontrollcsoport részletes transzkriptomikai eredményeit hőtérkép ábrázolással összegeztük. Az mRNS változás (*fold change)* adatok alapján klaszteranalízissel csoportokba soroltuk az egymáshoz hasonló mintákat, ill. az egymással hasonló kifejeződési mintázatot mutató géneket (24. ábra).



24. ábra: *Sejtmarkerek illetve gyulladásos mediátorok mRNS szintű változásai betegenként, hőtérkép ábrázolással. Kontroll és asztmás, orrpolipos betegekben (NP+AS). A piros szín emelkedést, a kék szín az adott génről átírt mRNS szint csökkenését jelzi.*

A betegek vagy a génmintázat közötti hasonlóságokat a hőtérkép ún. dendogramjai jelzik. A dendogramok ágainak hossza fordítottan arányos a génexpressziós minták hasonlóságával. A csoportanalízis alapján 2 nagyobb betegcsoportot különíthetünk el, mely megfelel a klinikailag egészséges, kontroll alanyoknak és az asztmás orrpolipos

betegeknek. A kontrollcsoport, amely gyulladásos jellegű folyamatokra utaló tünetekkel nem rendelkezik, igen heterogén génexpressziós mintázatot mutatott relatív magas TRPV1, CD117 (ckit) és TAC4 (hemokinin-1) mRNS értékekkel, míg a gyulladásos markerek eloszlása egyenetlen és átlagosan alacsonyabb értéket mutatott. Kilenc olyan gén (triptáz, karboxipeptidáz, EMR1, IL-4, IL-5, IL-13, IgE, CD3 és CD79a) mely a Th2 mediálta gyulladásos útvonalban játszik szerepet egy csoportba sorolódott (azaz hasonlóan fejeződött ki a mintákban) és az asztmás, orrpolipos mintákban kifejezetten emelkedett volt az értékük. A TRPV1 mRNS expresszió mintázata hasonló volt a hízósejtekre is jellemző markerekkel az alábbi sorrendben: TAC4 > CD117 > CHM-1 (kimáz). A TRPA1 kifejeződés mintázata különbözött a többi gyulladásos markertől, egyedül az IL-8 transzkriptummal látszott hasonlóan expresszálódni (24. ábra).

Gén	**Jellemző sejttípus**	**TRPV1 mRNS**	**TRPA1 mRNS**
CD79a	Plazma B-sejt	0.2433	-0.2191
CD117 (C-kit)	Hízósejt	**0.5709**	-0.4915
CD68	Makrofág	-0.01546	0.09439
CD14	Makrofág	-0.1992	-0.4692
CD3	T-limfocita	-0.02076	-0.3798
EMR1 (ADGRE1)	Eozinofil granulocita	-0.2349	**-0.5362**
TAC4 (HK-1)	Hízósejt, plazma B-sejt, makrofág	**0.7327**	-0.1405

3. táblázat: *Korreláció a mért mRNS mennyiségek között a 2. betegcsoportban (orrpolipózis asztmával) és a megfelelő kontrollcsoportban. A |≥0.50| korrelációs koefficiens értékek kiemelésre kerültek félkövér betűvel. Első oszlop: génnevek; második oszlop: a markergént tipikusan kifejező sejttípus.*

Annak érdekében, hogy számszerűsítsük a koexpresszió mértékét, a gének közti korrelációs koefficiens *r* értékét számoltuk ki. Azaz annak a mértékét, hogyan változott együtt 1-1 gén kifejeződése mintáról-mintára. Néhány kiemelt (gyulladásos sejtmarkerek, továbbá a legnagyobb értékkel rendelkező TAC4) *r* értéket a 3.

táblázatban jelöltünk. Az *r* érték -1 és +1 közé eső szám, értéke arányos azzal, hogy két gén transzkriptum mennyisége mennyire változott együtt, akár azonos vagy ellentétes irányban (előjellel). A TRPV1 mRNS mennyisége pozitívan korrelál a TAC4 (hemokinin-1 peptid) > CD117 (hízósejt) > CD79a (plazma B-sejt receptor) értékeivel, míg a TRPA1 mRNS negatív korrelációt mutat az eozinofil granulocyta sejtfelszíni marker [65] EMR1 (ADGER1) termékkel.

V. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

Az első betegcsoportban az asztmás, allergiás orrpolipos betegekben szignifikáns hízósejt és Th2 sejt eredetű citokin fehérje emelkedést észleltünk IL-4 vonatkozásában a nem allergiás, asztmás csoporthoz viszonyítva. Az összes alcsoportban szignifikánsan emelkedett volt az IL-8 szintje a kontroll mintákhoz képest, mely azért jelentős, mert ez a kemokin fontos a T-sejtek, bazofil sejtek és leukociták odavonzásához [66,67]. IFNγ fehérje mennyiségben nem észleltünk szignifikáns változást az egészséges kontrollokhoz képest. Ez az anti-inflammatorikus hatású citokin gátolja a B-sejtek izotípusváltását és serkenti a Th1 aktivitást [68].

Vizsgálatunkkal immunhisztokémiai bizonyítékot szolgáltattunk, hogy a nem-neuronális TRPV1 és TRPA1 receptorok jelen vannak az orrpolipos mintákban. TRPV1 immunfestődést figyeltünk meg plazmasejteken és makrofágokon, főként a mirigyek közti térségben, míg a TRPA1 nagy mennyiségben a sztrómális makrofágokon volt detektálható. Azonban TRPA1 pozitivitást nem tudtunk kimutatni plazmasejteken.

A nyálkahártya luminális felszínével történő, közvetlen környezettel való érintkezése magyarázhatja a TRPV1, TRPA1 pozitív sejtek mirigyek körüli akkumulációját, miután ezek a receptorok a környezeti káros hatások mint pl. szennyeződések, porrészecskék, számos egyéb kémiai anyag kemoszenzorai [41,69]. A TRPV1 igen, de a TRPA1 nem expresszálódott (nem plazmasejt) limfocitákon, a fibroblasztokon és makrofágokon viszont a TRPA1 kimutatható volt. Sem TRPV1 sem TRPA1 nem jelent meg eozinofil sejteken, mely egyezik a szakirodalmi adatokkal [70].

Elsőként mutattuk ki orrpolipban humán plazmasejteken a TRPV1, valamint az extraneuronális TRPA1 jelenlétét. Korábbi vizsgálatok során egér B-sejteken igazolták

TRPV1 receptorok jelenlétét nyirokcsomóban és lépben [71], valamint munkacsoportunk korábbi eredményei alapján vastagbél alsó szakaszában colitis egérmodelljében [72]. Humán normál orrepithéliumban mind a TRPV1 és TRPA1 receptor jelenléte bizonyított [33]. Vizsgálatunkban azt állapítottuk meg, hogy a TRPV1, TRPA1 mRNS szintek az egészséges kontrollcsoporthoz képest alacsonyabbak voltak. Ez az igen érdekes eredmény legalább kettő, egymást nem kizáró mechanizmussal magyarázható:

1. Gyulladásos sejteket találtunk az egészséges kontroll csoport szövettani mintáiban is, akiknél gyulladásos felsőlégúti megbetegedés nem szerepelt [66], ez a gyulladásos receptorok szintjét magasabbra emelheti. A légút azon része, mely a légáramlás által állandó kapcsolatban áll a környezeti hatásokkal pl. környezetszennyezés, por stb. még egészségesek esetén sem tekinthető teljesen „negatív" kontrollnak. Ezzel egyezően, a második vizsgálatunk kontrollcsoportjában a gyulladásos markerek mRNS-i szintén jelen vannak, és nem egységesen alacsony mértékben fejeződnek ki, hanem egyénileg különböző mértékben. Más elhelyezkedésű, alternatív anatómiai helyről vett minta lehetőségét más vizsgálatok már javasolták [73,74], azonban ez gyakorlati és etikai akadályokat vethet fel. A *processus uncinatus*, mint lehetséges alternatíva, lokalizációja miatt melléküregi műtétek esetén kerülhet eltávolításra. Ilyen műtéteket azonban csak igen ritkán végzünk olyan betegekben, akiknél nem áll fenn krónikus rhinosinusitis (pl. melléküregi tumorok, ciszta). Azonban még akkor sem zárható ki a gyulladásos elemek megjelenése. Megjegyzés: A 2. betegcsoportban a sejtmarker mRNS alapján úgy tűnik, hogy a hízósejtek és makrofágok száma között nincs különbség az egészséges csoport és az asztmás csoport között.

   Feltételezéseink szerint specifikus sejtmarker alapján azonosított plazma/B-sejtek emelkedése okozhatta a TRPV1 mRNS mennyiségében növekedését az asztmás/allergiás alcsoportban. Mindemellett nem zárható ki, hogy nem csak a sejtszám növekedése hozta magával a TRPV1 mRNS mennyiségi növekedését passzív módon, hanem adott sejttípusokban több TRPV1 mRNS képződött, de ezt az aspektust nem vizsgáltuk.

2. *a.* Mindegyik beteg a terápiás protokoll szerint INCS-t használt a műtétet megelőzően legalább 3 három hónapon keresztül [18]. Az intranazális kortikoszteroid hatása, hogy csökkenti az IgE, Th2 citokinek szintjét, ill. a T-sejtek, hízósejtek és eozinofilek számát, de nincs hatással a neutrofil, makrofág sejtszámra, ill. a IFNγ és TNFα mennyiségére [75,76]. Nem találtunk arra utaló irodalmi adatot, hogy az orrnyálkahártyán a kortikoszteroid milyen módon hat a TRPV1 receptorokra, főképp nem-neuronális sejteken. Más összefüggésben, amikor a glükokortikoidok hatását vizsgálták a neuronális TRPV1 receptorokra, ellentmondó eredményeket kaptak. Debrenev és mtsai. szerint a dexametazon közvetve aktiválja a TRPV1-et patkány vagus mag hátsó motoneuronjaiban [77]. Mások szerint ugyanakkor a dexametazon nem változtatja meg a TRPV1 mRNS expressziót patkány hátsó szarv ganglionjaiban és a gerincvelőben [78]. Összeségében azt feltételezzük, hogy az intranazális kortikoszteroid csökkentheti a gyulladásos receptorok számát.

   Mivel az INCS használata az orrpolipózis bázisterápia alapvető és kötelező része, ezért annak elhagyása orvosi szempontból nem megengedhető, hasonlóan olyan klinikai vizsgálatokhoz, ahol újabb, pl. biológiai terápiás szerek hatékonyságát mérjük. Emiatt a vizsgálataink esetében a normál egészséges kontroll fenti hiányosságait azzal kerültük ki, hogy a komorbiditás szerinti összehasonlítások mellett döntöttünk, mely alcsoport minden betege INCS használó volt közvetlenül a műtétet megelőző időszakban. A következő csoportokat vizsgáltuk: orrpolip komorbiditás nélkül, orrpolip allergiával, orrpolip allergiával és asztmával.

   b. Mindemellett az INCS bejutását blokkolhatják nagyobb polipok, így az orrüreg középső és felső részét nem éri el megfelelő mennyiségben a spray, azaz a helyileg használt oldat eloszlása előzetesen nem operált melléküregekben limitált lehet [18,79]. Vizsgálatunkban a polipokat INCS rezisztensnek tekintettük. Egy további összehasonlításban csak az orrpolipos alcsoportokat vettettük össze, akik egyúttal mind INCS használók voltak, így a gyógyszerszedést, mint változót kontrolláltuk.

Annak érdekében, hogy a megfelelő egészséges kontrollcsoporttal való összehasonlítás korlátjain túllépjünk, a második, asztmás polipos csoportban megvizsgáltuk számos

gyulladásos marker mRNS jelenlétét. Az alapján, hogy két adott génről átíródott mRNS szintje mennyire korrelál egymással (mennyire változik együtt betegről-betegre), következtethetünk arra, hogy ugyanazon sejttípus fejezi-e ki őket. Ezen felül, koexpresszió esetén felmerülhet funkcionális kapcsolat is az adott két gén terméke között. Megfigyeltük, hogy a TAC4 és más hízósejt markerek (chimáz, CD117) ko-expresszálódtak a TRPV1 transzkriptumaival. Leírták, hogy a TAC4 gén terméke, a hemokinin-1 peptid növeli a TRPV1 - de nem a TRPA1 - választ [80], továbbá a B-sejt ellenanyag termelést, valamint az IgE által mediált hízósejtes gyulladásos választ [81].

Kimutattuk, hogy az allergiás, különösen az allergiás, asztmás orrpolipos betegekben az extraneuronális TRPV1 mRNS szintje emelkedett, míg a TRPA1 mRNS mennyisége nem. Mivel a vizsgálati mintáinkban túlnyomórészt eozinofil túlsúlyú endotípust találtunk, feltételezzük, hogy az endotípusból adódó minimális különbség nem befolyásolta az eredményeinket. Egy másik, a gyulladásos profilon alapuló endotípus felosztásra utalva a mintáinkban túlnyomóan Th2 túlsúlyos citokin mintázatot találtunk, melyet fentebb leírtunk. Ez megegyezik a hisztopatológiai közlemények adataival [3,15,46]. Miután a plazmasejteken következetesen csak TRPV1 expressziót találtunk, TRPA1-t nem, ez magyarázhatja a TRPV1 - TRPA1 mRNS mintázatban észlelt különbségeket. A TRPV1 jelenléte emberi plazma B-sejteken új és ígéretes eredmény, azonban ennek jelentőségét még nem tudjuk. Egér hízósejteken végzett vizsgálatokkal kimutatták, hogy az ioncsatorna aktiválása degranulációhoz, ezáltal szerotonin és IL-4 felszabadulásához vezet [82–84]. Környezeti irritáns vegyületek, mint a dohányfüstben jelenlévő telítetlen aldehidek hatására a hízósejteken és makrofágokon található TRPA1 csatorna aktiválódhat és proinflammatorikus irányú folyamatokat indukálhat [85].

Az asztmás orrpolipos betegcsoportra jellemző, hogy a terápia gyakran sikertelen, igen magas arányban a betegség recidivál. A felgyorsult gyulladásos folyamatok, biofilm és bakteriális szuperantigén hatására lokálisan poliklonális IgE válasz alakulhat ki ezekben a betegekben [86]. Az orrpolipban jelen levő, IgE-t és IgA-t termelő plazmasejtek kiemelkedő szerepe ismeretes: az IgE aktiválja a hízósejteket, indirekten az eozinofil sejteket, amely tovább erősíti a gyulladást [3]. Feltételezhető, hogy a TRPV1-pozitív plazmasejtek aktivációja asztmás orrpolipos betegekben hozzájárul az emelkedett IgE szinthez és ezáltal a súlyosabb tünetek kialakulásához. Ha ez a feltételezésünk később

bizonyítást nyer, akkor TRPV1 antagonistával az IgE kaszkád kialakulása és a tünetek mérsékelhetők lennének.

Az intranazális kapszaicin deszenzibilizáció vagy denerváció a neuronális végkészülékre hat [61], és nem csökkenti a hízósejtek számát, továbbá a rhinitisek, rhinosinusitisek csak bizonyos formájában hatásos [52,54,58–61,87,88]. A kapszaicin deszenzibilizáció csökkenti az orrpolipózis tüneteit [18], míg allergiás rhinitisben nem [52]. Feltételezhető, hogy amiatt, hogy nincs hatással a nem-neuronális (immunsejt) TRPV1 funkciókra. A TRPV1 farmakológiai blokkolása egyaránt befolyásolhatja a neuronálisan és nem-neuronálisan elhelyezkedő receptorokat, míg a kapszaicin deszenzibilizáció nem, mivel utóbbi csak a neuronális TRPV1 receptorokat érinti [89]. A TRPV1 antagonista kezelés allergiás rhinitis egérmodelljében gátolta az immunfolyamatokat [90]. Betegekben ugyanakkor nem javította az allergiás rhinitist, de a hosszúhatású készítmény tesztelése még várat magára [52,91,92]. TRPV1 csatorna blokkoló még nem került kipróbálásra orrpolipózisban, különösen nem olyan komplex típusban, ahol asztma és allergia is része a betegségnek. Eredményeink végső soron rámutathatnak arra, hogy a TRPV1 antagonizmussal az asztmás, allergiás orrpolipos betegek súlyosabb tünetei leküzdhetők lehetnek.

A kapszaicin deszenzibilizáció a neurogén TRPV1 receptorokon hat, és ismert gyulladáscsökkentős hatása; azonban ez, a nem neuronális sejteken jelen levő TRPV1 receptorokra nincs hatással. A mi kutatásainkkal kimutattuk, hogy a nem neuronális TRPV1 plazmasejteken kifejeződik. A plazmasejt TRPV1 gyulladásos mediátorok felszabadításán keresztül „mintegy párbeszéd”-ben lehet a neuronális receptorokkal, ezt érdemes lenne tovább vizsgálni.

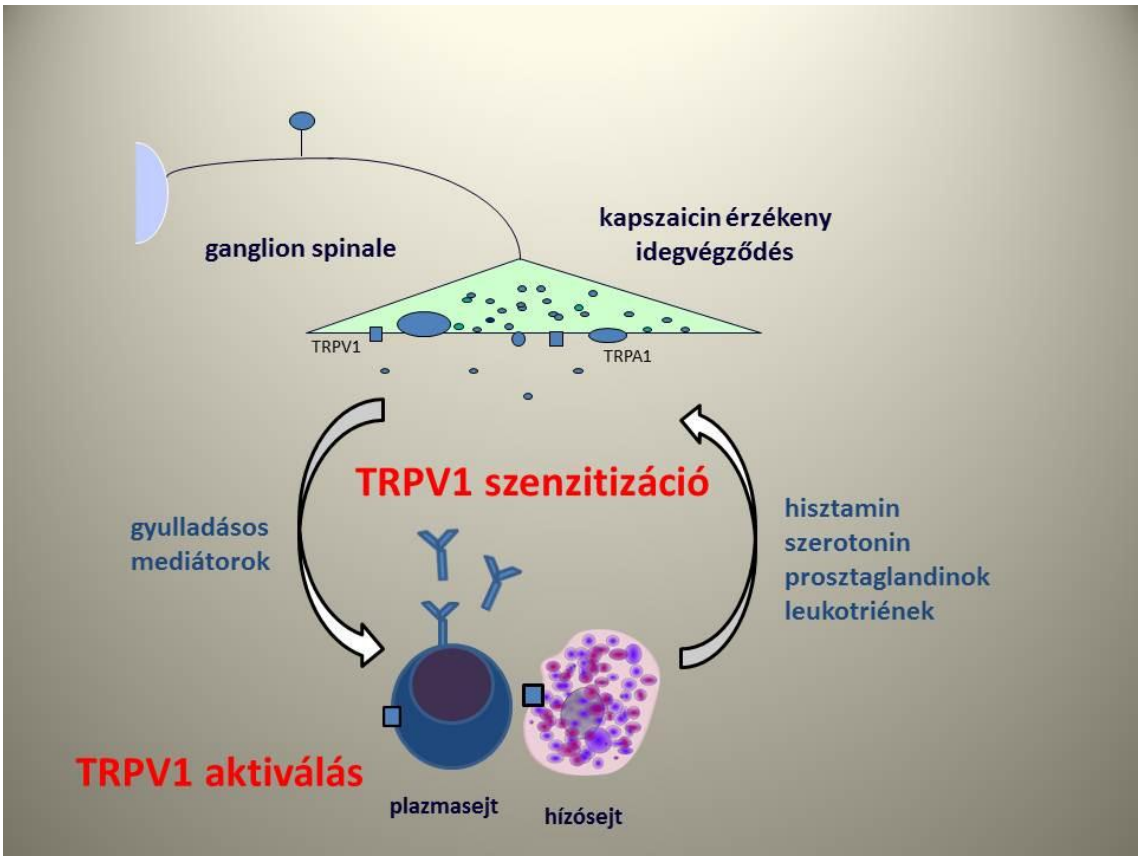
VI. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA, KÖVETKEZTETÉSEK

A *rhinosinusitis chronica* (CRS) egy multifaktoriális felső légúti betegség, melynek etiológiája tisztázatlan. A neuronális tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (TRPV1) és ankyrin 1 (TRPA1) befolyásolja a CRS patogenezisét. Célunk volt megvizsgálni, hogy CRS-ben kimutatható-e az extraneuronális TRPV1 és TRPA1 receptorok.

Mindösszesen 42 orrpolipózisos betegből, valamint 16 egészséges kontroll betegből vettünk mintát, azzal a céllal, hogy kvantitatív PCR segítségével mérjük a génexpressziót, immunhisztokémiai módszerrel kimutassuk a fehérje lokalizációt és multiplex immunoassay segítségével a citokinmintázatot.

A nem-neuronalis TRPV1 és TRPA1 receptor expressziót kimutattuk az orrpolipos mintákban. A hízósejtek és makrofágok egy csoportjában TRPV1 és TRPA1 immunpozitivitást találtunk. A plazmasejtek egy része kifejezte a TRPV1 receptort, de a TRPA1-t nem. Egyik receptor sem jelent meg eozinofil sejteken. A nem-neuronális TRPV1 és TRPA1 receptorok genomikus expresszióját is bizonyítottuk. Azon betegekben, akiknél orrpolipózis mellett asztma és allergia is szerepelt, a TRPV1 mRNS szint szignifikánsan megnőtt a többi alcsoporthoz viszonyítva.

Komorbid asztma és allergia esetén az emelkedett TRPV1 szintnek szerepe lehet az orrpolipózisban. A TPRV1-pozitív plazma és hízósejt szubpopulációk jelenléte, továbbá a TRPV1 és az immunfolyamatokat szabályozó TAC4 mRNS koexpressziója arra utalhat, hogy a receptor szerepet játszik a gyulladásos sejtek aktiválódásában és a proinflammatorikus mediátorok felszabadulásában (25. ábra).



25. ábra: *Új eredményeink összefoglalása (saját ábra): Az orrnyálkahártyán jelen levő neuronális TRPV1 és TRPA1 receptorok környezeti noxákra történtő aktiválódása során lokális neurogén gyulladás alakul ki. Az asztmás, allergiás orrpolipos betegek alcsoportjában, a lokálisan felszabaduló gyulladásos mediátorok által aktivizált TRPV1 pozitív plazma- és hízósejt szubpopuláció feltehetően modulálja a már kialakult neurogén gyulladásos folyamatot. A két–neuronális és nem-neuronális- rendszer között mintegy párbeszéd kapcsolat alakulhat ki, így befolyásolva a gyulladás erősségét.*

Függelék

Gén	Accession number	Assay	Assay helye vagy primer szekvenciája	Primer-koncentráció
GAPDH	NM_001256799 NM_002046	Hs02758991 #	728 704	F: 900 nM R: 900 nM Probe: 250 nM
GUSB	NM_000181	Hs00939627_m1 #	1522	
TRPV1	NM_018727 NM_080704 NM_080705 NM_080706	Hs00218912_m1 #	1540 1657 1583 1909	
TRPA1	NM_007332	Hs00175798_m1 #	441	
HPRT1	NM_000194		F 5'-TTGCTTTCCTTGGTCAGGCA-3' R 5'-TCAAATCCAACAAAGTCTGGCT-3'	F: 200 nM R: 200 nM
ACTB	NM_001101		F 5'-GTTGTCGACGACGAGCG-3' R 5'-GCACAGAGCCTCGCCTT-3'	F: 500 nM R: 500 nM
CMA1	NM_001308083 NM_001836		F 5'-TATGGACGGTCGGATGCAA-3' R 5'-TTGATCCAGGGCCGGTAAT-3'	F: 500 nM R: 500 nM
TNF	NM_000594		F 5'-CCCAGGCAGTCAGATCATCTTC-3' R 5'-AGCTGCCCCTCAGCTTGA-3'	F: 250 nM R: 250 nM
IFNG	NM_000619		F 5'-ATGTATTGCTTTGCGTTGGACA-3' R 5'-TCAATAGCAACAAAAAGAAACGAGAT-3'	F: 250 nM R: 250 nM
CD117 (c-Kit)	NM_000222 NM_001093772		F 5'-CGTTCTGCTCCTACTGCTTCG-3' R 5'-CCCACGCGGACTATTAAGTCT-3'	F: 250 nM R: 250 nM
ADGRE1 (EMR1)	NM_001256255.1 NM_001256254.1 NM_001256253.1 NM_001256252.1 NM_001974.4 XM_011527794.1		F 5'-CCAGTGTTAATGCCGAAGTCT-3' R 5'-GTGAACAGGTAAGCCATGACA-3'	F: 250 nM R: 250 nM
CD3D	NM_000732.4 NM_001040651.1		F 5'-ACTGGCTACCCTTCTCTCG-3' R 5'-CCGTTCCCTCTACCCATGTGA-3'	F: 250 nM R: 250 nM
CD79A	NM_021601.3 NM_001783.3		F 5'-GGATCATCCTCCTGTTCTGCG-3' R 5'-TCAGGCCTTCATAAAGGTTTTCA-3'	F: 250 nM R: 250 nM
CD14	NM_000591.3 NM_001040021.2 NM_001174104.1 NM_001174105.1		F 5'-ACGCCAGAACCTTGTGAGC-3' R 5'-GCATGGATCTCCACCTCTACTG-3'	F: 250 nM R: 250 nM
CD68	NM_001251.2 NM_001040059.1		F 5'-ACGCAGCACAGTGGACATTCT-3' R 5'-GGATCAGGCCGATGATGAGAG-3'	F: 250 nM R: 250 nM
IL4	NM_000589.3 NM_172348.2		F 5'-GCACAAGCAGCTGATCCGAT-3' R 5'-CAGGAATTCAAGCCCGCC-3'	F: 250 nM R: 250 nM
IL5	NM_000879.2		F 5'-CAGTACCCCCTTGCACAGTT-3' R 5'-CGAACTCTGCTGATAGCCAA-3'	F: 250 nM R: 250 nM

IL13	NM_002188.2		F 5'-ACAGCCCTCAGGGAGCTCAT-3' R 5'-TCAGGTTGATGCTCCATACCA-3'	F: 250 nM R: 250 nM
IgE	NC_018925.2		F 5'- ACCCTGGTCACCGTCTCCTCA-3' R 5'-CAGGACGACTGTAAGATCTTCACG-3'	F: 250 nM R: 250 nM
TPSAB1 (TRYPTASE)	NM_003294.3		F 5'-CTCCCACCGCCATTTCC-3' R 5'-TTCCCGGCACACAGCAT-3'	F: 500 nM R: 500 nM
CPA3	NM_001870.3		F 5'-AGGATGAAAAACAAGCAGACATCA-3' R 5'-CAGACTGGATGGCTTGGGATT-3'	F: 500 nM R: 500 nM
TAC4 (HK-1)	NM_170685.2 NM_001077506.1 NM_001077505.1 NM_001077504.1 NM_001077503.1		F 5'-TACGGCGAAGCTGTGCATT-3' R 5'-TCACACAAGGCCCACACTGA-3'	F: 500 nM R: 500 nM

A használt qPCR primerek és próbák szekvenciái.

Irodalomjegyzék

[1] Sobotta, Az ember anatómiájának atlasza 1., n.d.

[2] No Title, (n.d.). www.radiopaedia.org.

[3] C.A. Akdis, C. Bachert, C. Cingi, M.S. Dykewicz, P.W. Hellings, R.M. Naclerio, R.P. Schleimer, D. Ledford, Endotypes and phenotypes of chronic rhinosinusitis: A PRACTALL document of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology, J Allergy Clin Immunol. 131 (2013) 1479–1490.

[4] R.M. Leung, R.C. Kern, D.B. Conley, B.K. Tan, R.K. Chandra, Osteomeatal Complex Obstruction is not Associated with Adjacent Sinus Disease in Chronic Rhinosinusitis with Polyps, Am. J. Rhinol. Allergy. 25 (2011) 401–403.

[5] M. Tos, C. Mogensen, Pathogenesis of nasal polyps., Rhinology. 15 (1977) 87–95.

[6] J.U. Ponikau, D.A. Sherris, E.B. Kern, H.A. Homburger, E. Frigas, T.A. Gaffey, G.D. Roberts, The Diagnosis and Incidence of Allergic Fungal Sinusitis, Mayo Clin. Proc. 74 (1999) 877–884.

[7] R.K. Chandra, A. Pearlman, D.B. Conley, R.C. Kern, D. Chang, Significance of osteomeatal complex obstruction., J. Otolaryngol. Head Neck Surg. 39 (2010) 171–4.

[8] W.J. Fokkens, C. van Drunen, C. Georgalas, F. Ebbens, Role of fungi in pathogenesis of chronic rhinosinusitis, Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg. 20 (2012) 19–23.

[9] C. Bachert, P. Gevaert, N. Zhang, T. van Zele, C. Perez-Novo, Role of Staphylococcal Superantigens in Airway Disease, in: Superantigens and Superallergens, 2007: pp. 214–236.

[10] S. Ying, C.J. Corrigan, T.H. Lee, Mechanisms of aspirin-sensitive asthma, Allergol. Int. 53 (2004) 111–119.

[11] K. Lee, S.D. Pletcher, S. V. Lynch, A.N. Goldberg, E.K. Cope, Heterogeneity of Microbiota Dysbiosis in Chronic Rhinosinusitis: Potential Clinical Implications and Microbial Community Mechanisms Contributing to Sinonasal Inflammation, Front. Cell. Infect. Microbiol. 8 (2018) 1–8.

[12] E.K. Cope, A.N. Goldberg, S.D. Pletcher, S. V. Lynch, Compositionally and functionally distinct sinus microbiota in chronic rhinosinusitis patients have immunological and clinically divergent consequences, Microbiome. 5 (2017) 1–16. doi:10.1186/s40168-017-0266-6.

[13] N.A. Abreu, N.A. Nagalingam, Y. Song, F.C. Roediger, S.D. Pletcher, A.N. Goldberg, S. V. Lynch, Sinus microbiome diversity depletion and Corynebacterium tuberculostearicum enrichment mediates rhinosinusitis, Sci. Transl. Med. 4 (2012).

[14] V.J. Lund, I. Mackay, Staging in Rhinosinusitis, Rhinol. J. 31 (1993) 183–184.

[15] S.C. Payne, L. Borish, J.W. Steinke, Genetics and phenotyping in chronic sinusitis, J. Allergy Clin. Immunol. 128 (2011) 710–720.

[16] I. Gerlinger, E. Tóth, L. Török, J. Réti, A. Kett, I. Vóna, Aszpirin intolerancia és orrpolipózis : deszenzibilizációs kezeléssel szerzett első hazai tapasztalatok, FÜL-ORR-

GÉGEGYÓGYÁSZAT. 56 (2010) 242–250.

[17] H. Stammberger, Surgical treatment of nasal polyps: past, present, and future., Allergy. 54 Suppl 5 (1999) 7–11.

[18] W. Fokkens, V. Lund, J. Mullol, European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps, Rhinology. (2012) 1–136. doi:10.4193/Rhino50E2.

[19] L.T. Thresh, Isolation of capsaicin, Pharm J. 6 (1846).

[20] Y. Kaneko, A. Szallasi, Transient Receptor Potential (TRP) channels: a clinical perspective., Br. J. Pharmacol. (2013).

[21] D.J. Cosens, A. Mannig, Abnormal Electroretinogram from a Drosophila Mutant, Nature. 224 (1969) 285–287.

[22] S.F. Pedersen, G. Owsianik, B. Nilius, TRP channels: An overview, Cell Calcium. 38 (2005) 233–252.

[23] E.S. Fernandes, M.A. Fernandes, J.E. Keeble, The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves., Br. J. Pharmacol. 166 (2012) 510–21.

[24] N. Jancsó, A. Jancsó-Gábor, J. Szolcsányi, Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin., Br. J. Pharmacol. Chemother. 31 (1967) 138–51.

[25] J. Szolcsányi, Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology., Neuropeptides. 38 (2004) 377–84.

[26] J.B. Calixto, C. a L. Kassuya, E. André, J. Ferreira, Contribution of natural products to the discovery of the transient receptor potential (TRP) channels family and their functions., Pharmacol. Ther. 106 (2005) 179–208.

[27] M.J. Caterina, M. a Schumacher, M. Tominaga, T. a Rosen, J.D. Levine, D. Julius, The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway., Nature. 389 (1997) 816–24.

[28] J. Szolcsányi, Z. Sándor, Multisteric TRPV1 nocisensor: a target for analgesics., Trends Pharmacol. Sci. 33 (2012) 646–55.

[29] J.H. Lee, Y. Lee, H. Ryu, D.W. Kang, J. Lee, J. Lazar, L. V Pearce, V. a Pavlyukovets, P.M. Blumberg, S. Choi, Structural insights into transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) from homology modeling, flexible docking, and mutational studies., J. Comput. Aided. Mol. Des. 25 (2011) 317–27.

[30] P.K. Smith, B. Nilius, Transient Receptor Potentials (TRPs) and Anaphylaxis, Curr. Allergy Asthma Rep. 13 (2013) 93–100.

[31] W.-S. Shim, M.-H. Tak, M.-H. Lee, M. Kim, M. Kim, J.-Y. Koo, C.-H. Lee, M. Kim, U. Oh, TRPV1 Mediates Histamine-Induced Itching via the Activation of Phospholipase A2 and 12-Lipoxygenase, J. Neurosci. 27 (2007) 2331–2337.

[32] E. Pintér, Z. Helyes, J. Szolcsányi, Inhibitory effect of somatostatin on inflammation and nociception, Pharmacol. Ther. 112 (2006) 440–456.

[33] L. Alenmyr, A. Herrmann, E.D. Högestätt, L. Greiff, P.M. Zygmunt, TRPV1 and TRPA1

stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo, Clin. Physiol. Funct. Imaging. 31 (2011) 435–444.

[34] N. Seki, H. Shirasaki, K. Watanabe, E. Kanaizumi, N. Konno, J. Sato, S.-I. Narita, T. Himi, Expression and localization of TRPV1 in human nasal mucosa, Acta Otolaryngol. 124 (2009) 958–963.

[35] S. Bertin, Y. Aoki-Nonaka, P.R. de Jong, L.L. Nohara, H. Xu, S.R. Stanwood, S. Srikanth, J. Lee, K. To, L. Abramson, T. Yu, T. Han, R. Touma, X. Li, J.M. González-Navajas, S. Herdman, M. Corr, G. Fu, H. Dong, Y. Gwack, A. Franco, W. a Jefferies, E. Raz, The ion channel TRPV1 regulates the activation and proinflammatory properties of CD4(+) T cells., Nat. Immunol. (2014).

[36] O.M.E. (Editor) Abdel-Salam, Capsaicin as a Therapeutic Molecule, Springer, 2014.

[37] M.S.J. Brewster, R. Gaudet, How the TRPA1 receptor transmits painful stimuli: Inner workings revealed by electron cryomicroscopy, BioEssays. 37 (2015) 1184–1192. doi:10.1002/bies.201500085.

[38] P. Geppetti, P. Holzer, Neurogenic inflammation., CRC Press, 1996.

[39] P. Geppetti, R. Nassini, S. Materazzi, S. Benemei, The concept of neurogenic inflammation, BJU Int. Suppl. 101 (2008) 2–6.

[40] I. Pereira, S.J.F. Mendes, D.M.S. Pereira, T.F. Muniz, V.L.P. Colares, C.R.A. V. Monteiro, M.M.R. de S. Martins, M.A.G. Grisotto, V. Monteiro-Neto, S.G. Monteiro, J.B. Calixto, S.D. Brain, E.S. Fernandes, Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Channel Expression on Peripheral Blood Leukocytes from Rheumatoid Arthritic Patients and Correlation with Pain and Disability, Front. Pharmacol. 8 (2017) 1–9.

[41] P. Geppetti, R. Patacchini, R. Nassini, S. Materazzi, Cough: The emerging role of the trpa1 channel, Lung. 188 (2010) S63–S68. doi:10.1007/s00408-009-9201-3.

[42] L.-Y. Lee, TRPA1 ion channels: a gateway to airway irritation and reflex responses induced by inhaled oxidants., J. Physiol. 588 (2010) 747–8.

[43] P.L. Lieberman, P. Smith, F.M. Baroody, Nonallergic Rhinitis, Immunol Allergy Clin N Am. 20 (2012) 21–30.

[44] Á. Bán, R. Marincsák, T. Bíró, A. Perkecz, É. Gömöri, K. Sándor, I.B. Tóth, Á. Bánvölgyi, J. Szolcsányi, E. Pintér, Upregulation of Transient Receptor Potential Vanilloid Type-1 Receptor Expression in Oral Lichen Planus, Neuroimmunomodulation. 17 (2010) 103–108.

[45] J. Kun, A. Perkecz, L. Knie, G. Sétáló, T. Tornóczki, E. Pintér, Á. Bán, TRPA1 receptor is upregulated in human oral lichen planus, Oral Dis. 23 (2016) 189–198.

[46] J.K. Han, Subclassification of chronic rhinosinusitis., Laryngoscope. 123 (2013) S15-27.

[47] J.N. Baraniuk, Neurogenic mechanisms in rhinosinusitis, Curr Allergy Asthma Rep. 1 (2001) 252–261.

[48] J.S. Lacroix, Chronic rhinosinusitis and neuropeptides, Swiss Med. Wkly. 133 (2003) 560–562.

[49] L. Alenmyr, E.D. Högestätt, P.M. Zygmunt, L. Greiff, TRPV1-mediated itch in seasonal

allergic rhinitis, Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol. 64 (2009) 807–810.

[50] P. Geppetti, B.M. Fusco, S. Marabini, C.A. Maggi, M. Fanciullacci, F. Sicuteri, Secretion, pain and sneezing induced by the application of capsaicin to the nasal mucosa in man, Br. J. Pharmacol. 93 (1988) 509–514.

[51] P.K. Smith, J. Collins, Olopatadine 0.6% nasal spray protects from vasomotor challenge in patients with severe vasomotor rhinitis, Am. J. Rhinol. Allergy. 25 (2011) 149–152.

[52] W. Fokkens, P. Hellings, C. Segboer, Capsaicin for Rhinitis, Curr. Allergy Asthma Rep. 16 (2016) 1–5.

[53] K. Van Gool, V. Hox, Non-IgE-Mediated Rhinitis, Curr. Otorhinolaryngol. Rep. 3 (2015) 170–179.

[54] L. Van Gerven, Y.A. Alpizar, M.M. Wouters, V. Hox, E. Hauben, M. Jorissen, G. Boeckxstaens, K. Talavera, P.W. Hellings, Capsaicin treatment reduces nasal hyperreactivity and transient receptor potential cation channel subfamily V, receptor 1 (TRPV1) overexpression in patients with idiopathic rhinitis, J. Allergy Clin. Immunol. 133 (2014) 1332–1339.e3.

[55] A. Szallasi, P.M. Blumberg, Vanilloid (Capsaicin) Receptors and Mechanisms, Pharmacol. Rev. 51 (1999) 159–211.

[56] G. Acs, M. Palkovits, P.M. Blumberg, Comparison of [3H]resiniferatoxin binding by the vanilloid (capsaicin) receptor in dorsal root ganglia, spinal cord, dorsal vagal complex, sciatic and vagal nerve and urinary bladder of the rat., Life Sci. 55 (1994) 1017–26.

[57] P. Anand, K. Bley, Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch., Br. J. Anaesth. 107 (2011) 490–502.

[58] T. Baudoin, L. Kalogjera, J. Hat, Capsaicin significantly reduces sinonasal polyps., Acta Otolaryngol. 120 (2000) 307–11.

[59] C. Zheng, Z. Wang, J.S. Lacroix, Effect of intranasal treatment with capsaicin on the recurrence of polyps after polypectomy and ethmoidectomy., Acta Otolaryngol. 120 (2000) 62–6.

[60] J. Cheng, X.N. Yang, X. Liu, S.P. Zhang, Capsaicin for allergic rhinitis in adults., Cochrane Database Syst. Rev. (2006) CD004460.

[61] J.B. Van Rijswijk, E.L. Boeke, J.M. Keizer, P.G.H. Mulder, H.M. Blom, W.J. Fokkens, Intranasal capsaicin reduces nasal hyperreactivity in idiopathic rhinitis: a double-blind randomized application regimen study., Allergy. 58 (2003) 754–61.

[62] RefFinder, (n.d.). http://150.216.56.64/referencegene.php.

[63] F. Xie, G. Sun, J.W. Stiller, B. Zhang, Genome-wide functional analysis of the cotton transcriptome by creating an integrated EST database., PLoS One. 6 (2011) e26980.

[64] No Title, (n.d.). www.bio-rad.com.

[65] J. Hamann, N. Koning, W. Pouwels, L.H. Ulfman, M. van Eijk, M. Stacey, H.H. Lin, S. Gordon, M.J. Kwakkenbos, EMR1, the human homolog of F4/80, is an eosinophil-specific receptor, Eur. J. Immunol. 37 (2007) 2797–2802.

[66] A. Ural, M.S. Tezer, A. Yucel, H. Atilla, F. Ileri, Interleukin-4, interleukin-8 and E-selectin levels in intranasal polyposis patients with and without allergy: a comparative study, J Int Med Res. 34 (2006) 520–524.

[67] K. Yoshifuku, S. Matsune, J. Ohori, Y. Sagara, T. Fukuiwa, Y. Kurono, IL-4 and TNF-alpha increased the secretion of eotaxin from cultured fibroblasts of nasal polyps with eosinophil infiltration, Rhinology. 45 (2007) 235–241.

[68] C.H. Lee, C.S. Rhee, Y.G. Min, Cytokine gene expression in nasal polyps, Ann Otol Rhinol Laryngol. 107 (1998) 665–670.

[69] D. Kim, J.N. Baraniuk, Sensing the Air Around Us: The Voltage-Gated-Like Ion Channel Family, Rhinitis. (2007) 85–92.

[70] K. Håkansson, C. Bachert, L. Konge, S.F. Thomsen, A.E. Pedersen, S.S. Poulsen, T. Martin-Bertelsen, O. Winther, V. Backer, C. Von Buchwald, Airway inflammation in chronic rhinosinusitis with nasal polyps and asthma: The united airways concept further supported, PLoS One. 10 (2015) 1–11.

[71] H. Inada, T. Iida, M. Tominaga, Different expression patterns of TRP genes in murine B and T lymphocytes., Biochem. Biophys. Res. Commun. 350 (2006) 762–7.

[72] J. Kun, I. Szitter, A. Kemény, A. Perkecz, L. Kereskai, K. Pohóczky, A. Vincze, S. Gódi, I. Szabó, J. Szolcsányi, E. Pintér, Z. Helyes, Upregulation of the transient receptor potential ankyrin 1 ion channel in the inflamed human and mouse colon and its protective roles., PLoS One. 9 (2014) e108164.

[73] T. Takabayashi, A. Kato, A.T. Peters, L.A. Suh, R. Carter, J. Norton, L.C. Grammer, B.K. Tan, R.K. Chandra, D.B. Conley, R.C. Kern, S. Fujieda, R.P. Schleimer, Glandular mast cells with distinct phenotype are highly elevated in chronic rhinosinusitis with nasal polyps, J. Allergy Clin. Immunol. 130 (2012) 410–420.e5.

[74] K.E. Hulse, J.E. Norton, L. Suh, Q. Zhong, M. Mahdavinia, P. Simon, R.C. Kern, D.B. Conley, R.K. Chandra, B.K. Tan, A.T. Peters, L.C. Grammer, K.E. Harris, R.G. Carter, A. Kato, R.P. Schleimer, Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is characterized by B-cell inflammation and EBV-induced protein 2 expression, J. Allergy Clin. Immunol. 131 (2013) 1075–1083.e7.

[75] N. Kanai, J. Denburg, M. Jordana, J. Dolovich, Nasal polyp inflammation: Effect of topical nasal steroid, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 150 (1994) 1094–1100.

[76] M. Benson, I.L. Strannegard, O. Wennergren, G. Strannegard, Topical steroid treatment of allergic rhinitis decreases nasal fluid T(H)2 cytokines, eosinophils, eosinophil cationic protein, and IgE but has no significant effect on IFN-γ, IL-1β, TNF-α, or neutrophils, J. Allergy Clin. Immunol. 106 (2000) 307–312.

[77] A. V. Derbenev, B.N. Smith, S. Shank, S. Akana, T. Murayama, Dexamethasone Rapidly Increases GABA Release in the Dorsal Motor Nucleus of the Vagus via Retrograde Messenger-Mediated Enhancement of TRPV1 Activity, PLoS One. 8 (2013) e70505.

[78] H. Wang, M. Zhou, B. Cong, P. He, M. Xu, X. Ni, B. Ma, Transient changes in P2X3 but not TRPV1 mRNA expression in rat after prenatal exposure to glucocorticoids, Auton. Neurosci. Basic Clin. 141 (2008) 112–116.

[79] L. Badia, V. Lund, Topical corticosteroids in nasal polyposis., Drugs. 61 (2001) 573–8.

[80] R. Naono-Nakayama, N. Sunakawa, T. Ikeda, T. Nishimori, Differential effects of substance P or hemokinin-1 on transient receptor potential channels, TRPV1, TRPA1 and TRPM8, in the rat, Neuropeptides. 44 (2010) 57–61.

[81] T.L. Sumpter, C.H. Ho, A.R. Pleet, O. a. Tkacheva, W.J. Shufesky, D.M. Rojas-Canales, A.E. Morelli, A.T. Larregina, Autocrine hemokinin-1 functions as an endogenous adjuvant for IgE-mediated mast cell inflammatory responses, J. Allergy Clin. Immunol. 135 (2015) 1019–1030.e8.

[82] M. Freichel, J. Almering, V. Tsvilovskyy, The role of TRP proteins in mast cells, Front. Immunol. 3 (2012) 1–15.

[83] T. Bíró, M. Maurer, S. Modarres, N.E. Lewin, C. Brodie, G. Acs, P. Acs, R. Paus, P.M. Blumberg, G. Ács, P. Ács, R. Paus, P.M. Blumberg, Characterization of functional vanilloid receptors expressed by mast cells., Blood. 91 (1998) 1332–1340.

[84] A.M. Reynier-Rebuffel, P. Mathiau, J. Callebert, V. Dimitriadou, N. Farjaudon, K. Kacem, J.M. Launay, J. Seylaz, P. Abineau, Substance P, calcitonin gene-related peptide, and capsaicin release serotonin from cerebrovascular mast cells., Am. J. Physiol. 267 (1994) R1421-9.

[85] A. Parenti, F. De Logu, P. Geppetti, S. Benemei, What does evidence indicate about the role of TRP channels in inflammatory and immune cells?, Br. J. Pharmacol. 173 (2015) 953–69.

[86] K. Verbruggen, P. Van Cauwenberge, C. Bachert, Anti-IgE for the treatment of allergic rhinitis - and eventually nasal polyps?, Int. Arch. Allergy Immunol. 148 (2009) 87–98.

[87] H.M. Blom, L.A.W.F.M. Severijnen, J.B. Van Rijswijk, P.G.H. Mulder, R. Gerth Van Wijk, W.J. Fokkens, The long-term effects of capsaicin aqueous spray on the nasal mucosa, Clin. Exp. Allergy. 28 (1998) 1351–1358. doi:10.1046/j.1365-2222.1998.00421.x.

[88] A.M. Sanico, S. Atsuta, D. Proud, A. Togias, Dose-dependent effects of capsaicin nasal challenge: in vivo evidence of human airway neurogenic inflammation., J Allergy Clin Immunol. 100 (1997) 632–641.

[89] J. Kun, Z. Helyes, A. Perkecz, Á. Bán, B. Polgár, J. Szolcsányi, E. Pintér, A. Ban, B. Polgar, J. Szolcsanyi, E. Pintér, Effect of Surgical and Chemical Sensory Denervation on Non-neural Expression of the Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1) Receptors in the Rat, J. Mol. Neurosci. 48 (2012) 795–803.

[90] R. Samivel, D.W. Kim, H.R. Son, Y.H. Rhee, E.H. Kim, J.H. Kim, J.S. Bae, Y.J. Chung, P.S. Chung, E. Raz, J.H. Mo, The role of TRPV1 in the CD4+ T cell-mediated inflammatory response of allergic rhinitis, Oncotarget. 7 (2016) 148–160.

[91] L. Alenmyr, L. Greiff, M. Andersson, O. Sterner, P.M. Zygmunt, E.D. Högestätt, Effect of Mucosal TRPV1 Inhibition in Allergic Rhinitis, Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 110 (2012) 264–268.

[92] P. Bareille, R.D. Murdoch, J. Denyer, J. Bentley, K. Smart, K. Yarnall, P. Zieglmayer, R. Zieglmayer, P. Lemell, F. Horak, The effects of a TRPV1 antagonist, SB-705498, in the treatment of seasonal allergic rhinitis., Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 51 (2013) 576–584.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni Prof. Dr. Pintér Erikának, témavezetőmnek a kezdetektől belém vetett, kitartó hitét, szakmai támogatását és azt, hogy egy életre szóló szakmai- és tudományos igényességre tanított. Az általa nyert *OTKA NN-114458 és az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009 kutatási pályázatok* keretében végezhettem vizsgálataimat, hálásan köszönöm a lehetőséget. Szintén nagy hálával tartozom Prof. Dr. Gerlinger Imrének, második témavezetőmnek, aki rámutatott a rhinológia fontosságára, és ezt az irányvonalat kijelölte számomra. Mindig a szakmai és tudományos előmenetel fontosságára inspirált, ebben példát mutatott. Köszönet minden korábbi kollégámnak is, akik nélkül nem valósulhatott volna meg a humán betegekből végzett mintagyűjtés, mely a dolgozat alapjául szolgált.

Nagyon köszönöm Dr. Kun Józsefnek a farmakológia intézet kutatójának a vizsgálataink során végzett lelkiismeretes munkáját, tanácsait és azt, hogy minden esetben számíthattam rá. Hálával tartozom Hírné Perkecz Anikónak, aki az immunhisztológiai vizsgálatokat nagy precizitással végezte el. Köszönöm Dr. Tornóczky Tamásnak színvonalas pathológiai szupervizori munkáját. Továbbá hálával tartozom minden Farmakológai, Pathológiai és Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Intézetben dolgozó munkatársnak, aki részt vett a kutatás megvalósításában, elvégzésében.

Köszönöm Dr. Helfferich Frigyesnek, jelenlegi főnökömnek azt, hogy támogató hozzáállásával biztosította a PhD munkám befejezését.

Külön hálával tartozom családomnak, akik a támogató légkör megteremtésével lehetővé tették, hogy a dolgozat megszülethessen.

Publikációs lista

Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemény

Toth E, Tornoczky T, Kneif J, Perkecz A, Katona K, Piski Z, Kemeny A, Gerlinger I, Szolcsanyi J, Kun J, Pinter E
Upregulation of extraneuronal TRPV1 expression in chronic rhinosinusitis with nasal polyps.
RHINOLOGY 56:(3) pp. 245-254. (2018)
IF: 2,93 Q1

Egyéb teljes közlemények

Molnár Dávid, **Tóth Eszter**
Az allergiás rhinitis felismerése és kezelése
GYÓGYSZERÉSZ TOVÁBBKÉPZÉS 10:(3) pp. 75-78. (2016)

Tóth Eszter
Az obstruktív alvási apnoe és hypopnoe szindróma mögött meghúzódó fül-orr-gégészeti megbetegedése; az okok feltárásának modern módszere: az alvás alatti endoszkópia
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 62:(3) pp. 132-133. (2016)

Rath G, Katona G, Bako P, Torok L, Revesz P, **Toth E**, Gerlinger I
Application of ionomer cement onto the stapedial footplate: Impact on the perilymphatic aluminum level.
LARYNGOSCOPE 124:(2) pp. 541-544. (2014)
IF: **2.14**

Gerlinger Imre**, Tóth Eszter**, Török László, Réti Judit, Kett Antónia, Vóna Ida
Aszpirin intolerancia és orrpolipózis : deszenzibilizációs kezeléssel szerzett első hazai tapasztalatok
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 56:(4) pp. 242-250. (2010)

Patzkó Ágnes, **Tóth Eszter**, Somogyvári Krisztina, Gerlinger Imre
A comperative clinical study of mucotomy and KTP laser treatment of the inferior turbinate in allergic and non-allergic subjects
HEALTH (IRVINE) 2:(11) pp. 1287-1293. (2010)
IF:**0.5**

Tóth Eszter
Az orrlégzési nehezítettség
MAGYAR CSALÁDORVOSOK LAPJA 7: pp. 15-21. (2010)

Gerlinger I, Gobel G, **Toth E**, Szanyi I, Weninger C
Primary carcinoma of the frontal sinus: a case report and a review of literature
EUROPEAN ARCHIVES OF OTO-RHINO-LARYNGOLOGY 265:(5) pp. 593-597. (2008)
IF: **0,5**
Független idéző: 10

Patzkó Ágnes, Gerlinger Imre, Ablonczy Réka, Kett Antónia, **Tóth Eszter**, Török László, Pytel József.
Az alsó orrkagyló mucotomiája és KTP lézeres kezelése : összehasonlító klinikai vizsgálat allergiás rhinitisben szenvedő és nem allergiás betegekben
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 54:(4) pp. 165-174. (2008)

Tóth Eszter, Gerlinger Imre, Szanyi István, Gőbel Gyula, Weninger Csaba, Pytel József:
Sinus frontalis carcinoma: esetismertetés
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 54:(2) pp. 67-72. (2008)

Piski Z, Gerlinger I, **Tóth E**,Háromi I, Nepp N, Lujber L. Evaluation of chitosan based nasal dressing in animal model. Orv. Hetil. 2018; 159(47): 1981-1987.
IF: **0.322**

Az értekezés alapját képező prezentációk

E. Tóth, J. Kun, A. Perkecz, Z. Piski, I. Gerlinger, J. Szolcsányi, E. Pintér
Nem-neurális tranziens receptor potenciál VANILLOID 1 (TRPV1) - azaz kapszaicin receptor - és ANKYRIN 1 (TRPA1) receptorok jelenléte orrpolipózisban, asztmás betegcsoporton
A MAGYAR FÜL-, ORR-, GÉGE ÉS FEJ-, NYAKSEBÉSZ ORVOSOK EGYESÜLETE 43. KONGRESSZUSA, TAPOLCA, 2014. OKTÓBER 15-18. (előadás)

E. Toth, J. Kun, A. Perkecz, T. Tornoczky, I. Gerlinger, J. Szolcsanyi, E. Pinter
Expression of transient receptor potential vanilloid 1 (trpv1) and ankyrin 1 (trpa1) receptors in chronic rhinosinusitis
25TH CONGRESS OF THE EUROPEAN RHINOLOGIC SOCIETY IN CONJUNCTION WITH 32ND INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF INFECTION & ALLERGY OF THE NOSE; AMSZTERDAM, HOLLANDIA, 2014. JÚNIUS 22-26. (előadás)

E. Tóth, J. Kun, A. Perkecz, T. Tornóczky, I. Gerlinger, J. Szolcsányi, E. Pintér
Nem-neurális tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (trpv1)-azaz kapszaicin receptor- és ankyrin 1 (trpa1) receptorok jelenléte krónikus rhinosinusitisben
MAGYAR FÜL-, ORR-, GÉGE ÉS FEJ-, NYAKSEBÉSZ ORVOSOK EGYESÜLETE 42. KONGRESSZUSA, PÉCS, 2012. OKT. 17-20. (előadás)

J. Kun, **E. Tóth**, A. Perkecz, T. Tornoczky, I. Gerlinger, J. Szolcsanyi, E. Pinter
Nem-neurális tranziens receptor potenciál vanilloid 1 (trpv1) és ankyrin 1 (trpa1) receptorok jelenléte rhinosinusitisben
MAGYAR FARMAKOLÓGIAI, ANATÓMUS, MIKROCIRKULÁCIÓS, ÉLETTANI TÁRSASÁGOK KÖZÖS TUDOMÁNYOS KONFERENCIÁJA (FAMÉ), PTE ÁOK, PÉCS, 2011. JÚNIUS 8-11 (poszter)

J. Kun**, E. Toth**, A. Perkecz, T. Tornoczky, I. Gerlinger, J. Szolcsanyi, E. Pinter
Expression of transient receptor potential receptors vanilloid 1 (trpv1) and ankyrin 1 (trpa1) in nasal polyposis
THE 8TH JOINT MEETING OF THE EUROPEAN NEUROPEPTIDE CLUB AND THE AMERICAN SUMMER NEUROPEPTIDE CONFERENCE, BOSTON, 2011. MÁJUS 22-25. (poszter)

Idézhető kivonatok (absztraktok)

E. Tóth, J. Kun, A. Perkecz, T. Tornoczky, I. Gerlinger, J. Szolcsányi, E. Pinter
Expression of transient receptor potential Vanilloid 1 (TRPV1) and Ankyrin 1 (TRPA1) receptors in chronic rhinosinusitis
RHINOLOGY (2014) 52:S25:625
IF: **2,8**

J. Kun, **E. Toth**, A. Perkecz, T. Tornoczky, I. Gerlinger, J. Szolcsanyi, E. Pinter
Expression of transient receptor potential receptors vanilloid 1 (TRPV1) and ankyrin 1 (TRPA1) in nasal polyposis
JOURNAL OF MOLECULAR NEUROSCIENCE 48:(1) pp. S197-S198. (2012);
IF: **2,504**

Kun J**, Toth E**, Perkecz A, Tornoczky T, Gerlinger I, Szolcsanyi J, Pinter E
The presence of non-neural transient receptor potential receptors vanilloid 1 (trpv1) and ankyrin 1 (trpa1) in rhinosinusitis
ACTA PHYSIOLOGICA 202:(S683) pp. 64-65. (2011)
IF: **0,453**

Tóth Eszter, Török László, Kett Antónia, Réti Judit, Gerlinger Imre
Az aszpirin deszenzibilizáció tapasztalatai klinikánkon
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 56:(3) p. 187. (2010)
Török László, Bakó Péter**, Tóth Eszter**, Szabadi Éva, Szanyi István, Lujber László, Gerlinger Imre *Távoli áttétek laphám eredetű malignus fej-nyaki daganatokban: esetismertetések*
FÜL-ORR-GÉGEGYÓGYÁSZAT 56:(3) p. 188. (2010)

Az összes publikáció (teljes közlemények) impakt faktora

IF: 6,392