

Capsaicin vaszkuláris hatásai, antidrómos vazodilatáció és  
nocicepció: vizsgálatok új funkcionális módszerekkel

Doktori (PhD) értekezés

Dr. Pórszász Róbert

Pécsi Orvostudományi Egyetem  
Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet

Pécs

1999

## Tartalomjegyzék

Általános bevezetés.....	1
Az egyes kísérletssorozatok részletes ismertetése.....	5
I. A capsaicin és a capsaicin analóg resiniferatoxin (RTX) keringési és légzési hatásainak analízise in vivo rendszerben.....	5
Bevezetés.....	5
Módszerek.....	6
Eredmények és következtetések.....	6
II. Antidrómos vazodilatáció analízise bőrben, harántcsikolt izomban a capsaicin analóg resiniferatoxin segítségével.....	7
Bevezetés.....	7
Módszerek.....	8
Eredmények és következtetések.....	8
III. Capsaicin és resiniferatoxin bőr és izom vérátáramlására gyakorolt hatásai.....	10
Bevezetés.....	11
Módszerek.....	12
Eredmények és következtetések.....	13
IV. A fájdalom mechanizmusának vizsgálata „functional Magnetic Resonance Imaging” (fMRI) technikával.....	14
Bevezetés.....	14
Módszerek.....	15
Eredmények és következtetések.....	17
Általános megbeszélés.....	19
A capsaicin érzékeny nociceptív afferensek funkcionális vizsgálatának néhány módszertani szempontja.....	20
A. Szenzoros funkciók vizsgálata (elektrofiziológia, nocicepció, MRI).....	20
B. Szenzoros idegvégződésekből felszabaduló mediátorok efférens vaszkuláris hatásai.....	21
C. Az értekezés kísérleti eredményeinek módszertani háttere.....	21
Nocicepció vizsgálata fMRI-vel.....	21
Antidrómos vazodilatáció vizsgálata laser-Dopplerrel.....	24
Laser-Doppler vizsgálatok patkány hátsóvégtag perfúzióval.....	26
Az értekezés kísérleti eredményeinek jelentősége és összevetése a szakirodalommal.....	27
A disszertációban szereplő új eredmények összefoglalása.....	32
Köszönetnyilvánítás.....	34
A hivatkozott közlemények jegyzéke.....	35
A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények.....	40
Egyéb publikációk jegyzéke.....	42
A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények fénymásolatai.....	45

## Általános bevezetés

Az elmúlt 1-2 évtizedben a szenzoros idegrendszer vizsgálata eredményeként ma már általánosan elfogadottá vált, hogy a primer afferensek kettős funkcióval rendelkeznek, így nemcsak a periféria felől érkező információval látják el a központot (szenzoros funkció), hanem a perifériás végződéseik szomszédságában zajló folyamatokra reagálni és azt effektíven befolyásolni vagy létrehozni is képesek (effektor funkció). E nemzetközileg is haladó kutatási irány Magyarországon hagyományokra tekint vissza. Új metodikai megközelítések, mint amilyen pl. a szöveti vérátáramlás mérő készülék, azaz a laser-Doppler használata a szenzoros neuronok vaszkuláris elemekre kifejtett hatásának vizsgálatában vagy a mágneses magrezonancia alkalmazása a jelenségek részleteinek megismerését nagymértékben elősegíti. A kutatásban eddig eltöltött időmben mindig hangsúlyt kapott az új metodikai eljárások kipróbálása, adaptálása, kidolgozása. Külföldi tanulmányutam során alkalmam nyílt a fájdalomérzés gerincvelői mechanizmusát functional Magnetic Resonance Imaging technikával *in vivo* rendszerben vizsgálni. Az itthon eltöltött idő alatt a jelen disszertációban szereplő kísérletes munkákon kívül tevékenyen vettem ki részemet több kísérlet sorozat metodikai kitalálásában, kidolgozásában és a kísérletek kivitelezésében (Abdel Salam et al., 1996; Pethő et al., 1999; Peitl et al. 1999).

A szenzoros neuron farmakológiájának lassan alakuló fejezetéhez a paprika csipő anyagával, a capsaicinnel történt vizsgálatok jelentős mértékben járultak hozzá, azonban szelektíven az érző neuronra ható gyógyszerrel mind a mai napig nem rendelkezünk és valószínűleg az experimentálisan használt anyagok közül (resiniferatoxin, izovellerál, ruthénium vörös) sem lesz egy sem, amely gyógyszerként kerülhetne törzskönyvezésre. Mégis ezen anyagok alapvető fiziológiai mechanizmusok feltárását teszik lehetővé és így alapiját képezhetik a gyógyszer fejlesztésnek (l. capsazepine). Magának a csipős anyagnak, a

capsaicinnek ("kapsó" görögül csípni) első farmakológiai analizisét Thresh 1876-ban és Högyes Endre 1878-ban végezte el, Nelson 1919-ben és 1920-ban leírja a capsaicin szerkezeti képletét és megoldja a capsaicin kémiai szintézisét. Lille (1935) kiterjedten vizsgálja a capsaicin farmakológiáját. Jancsó Miklós már a 40-es évek végén kísérleteket végez a capsaicin perifériás támadáspontjára vonatkozóan (1949). Tisztázásra kerül, hogy a capsaicin okozta ún. hármaválasz (hipotónia, bradikardia, apnoe) az a pulmonalisban elhelyezkedő receptorokon keresztül jön létre (Pórszász és mtsai, 1955; Toh és mtsai, 1955, Pórszász és mtsai, 1957) és leírásra kerül a capsaicin direkt vazokonstriktor hatása is (Pórszász és mtsai, 1955). Capsaicinnel deszenzibilizációt először Jancsó Miklós hoz létre (1949). Az újszülöttkori capsaicin kezelés a capsaicin érzékeny rostokra nézve neurodegeneratív hatású (Jancsó és mtsai, 1977). Szerkezet-hatás összefüggés vizsgálatokat Szolcsányi és Jancsó-Gábor végzett először a 70-es évek közepén (Szolcsányi és Jancsó-Gábor, 1975 és 1976). A kísérletekben csípős és nem csípős capsaicin analógok kerültek tesztelésre, ami alapján létrejött a capsaicin receptor modell elképzelése. Különböző ingerek (lokális izgatás, antidrómos izgatás) behatására a capsaicin-érzékeny neuronok termináisaiból és a preterminalis varikozitásaikból calcitonin-gene related peptide (CGRP) és substance P (SP) (rev. Holzer, 1991), melyek helyi hatásokat (vazodilatáció, plazmaextravazáció, simaizom kontrakció, vagy relaxáció), valamint somatostatin (SOM) (Szolcsányi és mtsai., 1998) szabadul fel, ami a keringésbe kerülve általános hatásokat hozhat létre. A fent említett mechanizmusokkal megvan a lehetősége az axonreflex kialakulása mellett egy direkt, axonális vezetéstől független helyi válaszreakciónak és távoli hatásoknak is.

A természetben előforduló különböző toxinok farmakológiai vizsgálata sokszor meglepő eredményekre vezet. Néhány euphorbia faj látéxéből sikerült kivonni egy igen erősen irritáns diterpént, amelyet az Euphorbia resinifera kaktusz szerű növényből (Marokkóban általánosan elterjedt) történt előállítás után resiniferatoxinnak (RTX) neveztek el

(Hergenbahn és mtsai, 1975). Miután kiderült, hogy az anyag nem cancerogén dieterpén, a tumor promóterek után kutató munkacsoport érdeklődése az anyag iránt megszűnt. Mivel az anyag rendelkezik a 4-hidroxi-3-metoxifenilacetát csoporttal, amely a capsaicin szerkezeti képletében is megtalálható és felelős az anyag farmakológiai hatásaiért, későbbi kutatásokban feltételezték, hogy a korábban leírt igen erős gyulladáskeltő hatásért (Hergenbahn és mtsai, 1975) valószínűleg ez a kémiai csoport felelős (Szállási és Blumberg, 1989 és 1990; Blumberg és mtsai, 1993; Szállási, 1995). A későbbi vizsgálatok kimutatták, hogy az RTX a capsaicinhez hasonló hatásokat hoz létre, a hatás erősségében azonban nagyságrendi különbségek vannak (Szállási és mtsai, 1989; Szállási és Blumberg, 1990; Blumberg és mtsai, 1993). Újabb kutatások pedig feltételezik, hogy a capsaicin receptorának, melyet klónozni is sikerült (Caterina és mtsai, 1997) altípusai vannak, melyek között a capsaicin és RTX érzékenységekben lehet különbséget tenni. A két anyag hatás különbözőségére jó példa, hogy az RTX a pulmonális chemoreceptorok deszenzitivizációját képes előzetes aktiválás nélkül létrehozni, ellentétben a capsaicinnel (Szolcsányi és mtsai, 1990). Már ezekből és más kísérletekből is felvetődik a vanilloid (capsaicin/RTX) receptor heterogenitásának lehetősége (Szállási és Blumberg, 1999). Kísérleteinkben az RTX akut deszenzibilizáló hatását használtuk ki, mivel a capsaicin erre alkalmatlan, így lehetővé vált önkontrollos kísérletek kivitelezése.

Az általam végzett kísérletek a fent vázolt rendszer egyes aspektusaival foglalkoztak a POTE Gyógyszertani Intézetében, Szolcsányi professzor irányítása mellett. Az alábbiakban röviden vázolom az értekezés logikai menetét és egyes fejezeteit.

I. Vizsgáltam a capsaicin és az RTX keringési és légzési hatásait patkányon és tengerimalacon. A tengerimalacra vonatkozóan irodalmi adatokkal nem rendelkeztünk, annak ellenére, hogy irritánsok bronchokonstriktiót okozó hatását és ennek farmakonokkal való

gátolhatóságát elsősorban tengerimalacokon vizsgálják. Tanulmányoztam, hogy az RTX hogyan képes gátolni a más speciestől egészen különböző capsaicin kiváltotta válaszokat tengerimalacon. I. pont.

II. Kísérleteket végeztem annak megállapítására, hogy az antidiromos vazodilatáció, amit korábban csak a bőrre vonatkozóan tudtak kimutatni, megtalálható-e más szövetben (harántcsikolt izom). Vizsgáltam azt is, hogy a szenzoros neuronok RTX-szel történt akut deszenzibilizációja hogyan befolyásolja a hátsógyök ingerlésre létrejövő antidiromos vazodilatációt. A kísérletek a szöveti véráramlás laser-Dopplerrel történő monitorozására épültek. II. pont.

III. Tanulmányoztam a capsaicin és az RTX hatását a bőr és izom mikrocirkulációjára, perfúziójára vonatkozóan egy újonnan kidolgozott patkány alsóvégtag perfúziós módszerrel, melynek számos előnye van a sóoldattal való perfundálással szemben. III. pont.

IV. Az utolsó kísérletorozatban sikerült experimentálisan mintegy láthatóvá tenni a fájdalom újít functional Magnetic Resonance Imaging technikával. E kutatásokat tanulmányút keretében a svájci Sandoz, majd a Ciba-val történt egyesülést követően a Novartis bázeli központjában végeztem. IV. pont.

Az alábbiakban következik az egyes kísérletorozatok részletes ismertetése. Az egyes pontok illetve alpontok esetén utalás található a kapcsolódó saját közleményekre.

## I. A capsaicin és a capsaicin analóg resiniferatoxin (RTX) keringési és légzési hatásainak analízise in vivo rendszerben

(1., 2. és 3. közlemény)

### **Bevezetés**

Régóta ismert, hogy a myelin hüvely nélküli C vagus afferensek elektromos ingerlésével a klasszikus Bezold-Jarisch (pulmonális kemoreflex) létrehozható, ami bradikardia, hipotónia és apnoe triászról áll. A reflex különböző kémiai anyagokkal is kiváltható így veratridinnel (Coleridge és Coleridge, 1986; Paintal, 1957), fenilbiguaniddal (Coleridge és Coleridge, 1986; Jain és mtsai, 1972; Kay és Armstrong, 1990), szerotoninnal (Coleridge és Coleridge, 1986; Paintal, 1973) és capsaicinnal (Coleridge és mtsai, 1964; Pórszász és mtsai, 1955; Pórszász és mtsai, 1957; Szolcsányi és mtsai, 1990). E kísérleteket különféle speciéseken (patkány, nyúl, macska, kutya) végezték. A capsaicinnal bizonyos tesztekben 3-4 nagyságrenddel potensebb szerkezeti analóg RTX (Maggi és mtsai, 1990; Szállási és Blumberg, 1989; Szállási és mtsai, 1989; Szállási és Blumberg, 1990) a capsaicinhez hasonlóan képes depletálni a szenzoros neuronok CGRP és SP tartalmát, ennek ellenére a kardiorespiratorikus hatásaiban jelentős species különbségek vannak. Macskában az RTX képes kiváltani a Bezold-Jarisch reflexet és deszenzibilizációt hoz létre a capsaicinnal szemben (Szolcsányi és mtsai, 1990). Ezt a deszenzibilizációt patkányban azonban a reflex kiváltása nélkül képes létrehozni (Szolcsányi és mtsai, 1990; Szolcsányi és mtsai, 1991). A patkány mellett a tengerimalacon végzett kísérleteink célja az volt, hogy információt nyerjünk egy olyan species capsaicin és RTX kiváltotta keringési és légzési válaszairól, amelyről közismert, hogy tüdejének hisztamin tartalma jóval nagyobb más speciésénél és így igen fogékony a súlyos bronchokonstriktiót létrehozó irritánsokra, amely reakcióban szenzoros neuron idegvégződések is szerepet játszanak.

## **Módszerek**

Az uretánnal (1,0-1,2 g/kg i.p.) altatott tengerimalacok vérnyomását és annak első deriváltját (amely durva megközelítést adja a szívizomzat kontraktilitásának) a bal a. carotis-ba kötött kanül segítségével mértük. A légzőmozgásokat a tracheába vezetett Y kanül egyik szárán keresztül regisztráltuk. Az anyagokat szisztémásan a v. jugularison keresztül adtuk. A kísérletek teljes időtartama alatt az állatok maghőmérsékletét egy önszabályozott melegítőpad segítségével 37 °C-on tartottuk.

## **Eredmények és következtetések**

Az intravénásan adott capsaicin (5-20 µg/kg) bradikardia létrejötte nélkül kissé csökkentette a vérnyomást és 2 másodperces latenciával tachypnoét okozott, ami a 8. s-ig tartott. Ez a jelenség teljesen különbözik a patkány esetében tapasztaltakkal, ahol a capsaicin 0,8-1,6 µg/kg dózisa jelentős vérnyomás esökkenést és apnoét hozott létre. 1 µg/kg RTX átmeneti hipotenzió után vérnyomás emelkedést hozott létre, bradikardia azonban nem alakult ki. A légzésben a kezdeti tachypnoe lassan kialakuló, felszínes, kis amplitúdójú légzés váltotta fel. Az RTX adását követő 5 µg/kg capsaicin i.v. injekciója nem volt képes tachypnoet létrehozni és hipotenzív hatása is kevésbé volt kifejezett. A beadást követő 6-8 másodperc múlva azonban bradypnoe fejlődött ki. Bilaterális cervikális vagotómia után 5 µg/kg capsaicin adását követően sem tachypnoe, sem hypotenzio nem jött létre, azonban a 8. másodpercet követő késői bradypnoe, ami csak az intakt vagusszal rendelkező RTX után alkalmazott capsaicin esetén volt megfigyelhető, sokkal kifejezettebbé vált. A vagus átmetezett állatokban az 1 µg/kg RTX lassan kialakuló presszor választ és a légzőmozgások amplitúdójának



növekedését eredményezte (hyperpnoe). Az ezután adott capsaicin a már említett 7-8 s múlva fellépő apnoén kívül sem vérnyomás, sem szívfrekvencia változást nem okozott.

*E fenti eredményekből következők:*

1. *Tengerimalachban a capsaicin, ellentétben más speciésekkal (patkány, nyúl, macska, kutya) a klasszikus Bezold-Jarisch reflex helyett jelzett hipotenziót és tachypnoet hoz létre.*

2. *Ezt a hatását lényegesen nagyobb dózisban (5-20 µg/kg) fejtí ki, mint a pulmonális kemoreflexet patkány esetén (0.8-1.6 µg/kg).*

3. *Az észlelt jelenségek létrejöttében a n. vagusok szerepet játszanak, mivel átmetésükkel a jelenségek megszűnnek.*

4. *A késői (8. másodpercet követő) bradypnoe kialakulásában a vagusok nem vesznek részt és azt az RTX a tachypnoe megszüntetésével intakt vagusokkal rendelkező állapotban is mintegy láthatóvá teszi.*

## II. Antidrómos vazodilatáció analízise bőrben, harántcsíkolt izomban a capsaicin analóg resiniferatoxin segítségével

(4. és 5. közlemény)

### Bevezetés

Régóta ismert (l. általános bevezetés), hogy a gerincevelői hátsággyökök antidrómos ingerlésével vazodilatáció váltható ki a bőrben (Celandier és Folkow, 1953). Keveset tudunk azonban arról, hogy ez a vazodilatáció általános jelenség-e vagy csak a bőrre korlátozódik. Mind az izom, mind az ízületi afferensek egy része tartalmaz CGRP-t (O'Brien és mtsai, 1989) és ez elektromos izgatással az ideg végződéseiből felszabadítható (Uchida és mtsai, 1990). A harántcsíkolt izomban az így kiüríthető CGRP az A delta és a C rostok termináisaiból származik, míg kisebb részben motoros rostok is tartalmaznak CGRP-t (Öhlén és mtsai, 1987; Sakaguchi és mtsai, 1991). Mindezek ellenére korábban nem sikerült

harántsíktolt izomban antidiómos vazodilatációt kimutatni (Celander és Folkow, 1953). Célszerűnek láttuk a kérdést újra megvizsgálni a rendelkezésünkre álló igen érzékeny új technika a mikrocirkulációs laser-Doppler segítségével. Néhány kísérletben vizsgáltuk azt is, hogy más területeken, nevezetesen a hereburkokban (aminek felépítésében izomszövet ugyancsak résztvesz), valamint az ízületekben is létrehozható-e antidiómos vazodilatáció.

### **Módszerek**

A kísérleteket thiobutobarbitállal (100 mg/kg Inactin i.p.) altatott nőstény, valamint a hereburkokra vonatkozó kísérleteket him Wistar patkányokon végeztük. A jobb a. carotis communisba, a v. jugularisba, valamint a tracheába kanülöket kötöttünk. Az állatokon laminektómiát végeztünk a lumbosacralis régiónak megfelelően. A hát bőrét drótkerethez rögzítettük és az így kialakult teret paraffin olajjal töltöttük fel. A durazsák megnyitása után beidegzési területnek megfelelően kiválasztott hátsó gyököket a gerincvelőhöz közel átvágtuk és a perifériás csomkot bipoláris platina elektródra fektettük. Az elektromos ingerlést különböző frekvencia paraméterekkel, de mindig a C rostok szupramaximális ingerlésével végeztük. A mikrocirkulációs laser-Doppler egyik szondáját a talp bőrére, a másikat a gluteális izomzatra helyeztük. A kísérlet egész tartama alatt védjük a vizsgált területet (izom, hereburok, ízület) a kiszáradástól és az állat maghőmérsékletét önkontrollált fűtőpad segítségével 37 °C-on tartottuk. Regisztráltuk a vérnyomást, annak első deriváltját, a vizsgált területeken létrejövő mikrocirkulációs változásokat, valamint a légzőmozgásokat.

### **Eredmények és következtetések**

A kísérletek nagy részében spontán oszcilláció (~3/min) volt megfigyelhető az izom esetén, amelyet sem volumen pótlással (Gustaffson és mtsai, 1991), sem gallammal (80 mg/kg i.v.), sem az RTX kis dóziséval (0.1 µg/kg i.v.) nem sikerült gátolni. Az RTX nagy

dózisa (1.0 µg/kg i.v.) teljesen és irreverzibilisen megszüntette. Ez arra utal, hogy a szenzoros neuronok szerepet játszhatalnak az izom mikrocirkuláció lokális szabályozásában, mely valószínűleg a szenzoros neuronokból származó neuropeptidek útján valósulhat meg. Az oszcilláció egyes esetekben a bőrben is tapasztalható volt, ugyan sokkal kisebb amplitúdóval. A hátsógyökök elektromos izgatása (0.5 Hz vagy 10 Hz; 0.5 ms; 20 V), mind az izomban, mind a bőrben vazodilatációt hozott létre, azonban jelentős különbségek adódtak a két terület között. A bőrben az ingerlés frekvencia optimuma a korábban leírtaknak megfelelően (Szolcsányi, 1988) 0.5 Hz-nek adódott. Ezzel szemben az izomban a vazodilatáció görbe alatti területe 10 Hz esetén szignifikánsan nagyobb volt, mint 0.5 Hz esetén. A két terület különbözősége az ingerlés és a vazodilatáció létrejötte közötti latencia időben is megnyilvánult. Míg bőr esetén 9-10 s volt a latenciaidő függetlenül az ingerlési frekvenciától, addig az izomban 0.5 Hz-es ingerlés esetén 35-40 másodpercre volt szükség a hatás kialakulásához. 10 Hz-es ingerlés esetén azonban a bőrben tapasztaltakhoz hasonlóan 9-10 másodpercre volt szükség az ingerlés hatásának megjelenéséig. E különbségek valószínűleg az eltérő anatómiai viszonyokban rejlenek (Stacey, 1969; Mense, 1993). A kísérleti eredmények jó összhangban vannak azokkal az irodalmi adatokkal, melyek bizonyították, hogy a capsaicin helyi alkalmazása a transzverzális arteriolák dilatációjához vezet nyúl harántcsíkt izomban (Öhlén és mtsai, 1987), továbbá, hogy a capsaicin CGRP-t képes felszabadítani a patkány összeaprított harántcsíkt izmából in vitro (Santicioli és mtsai, 1993). Kísérleteinkben egyszer sem tapasztaltuk azonban az izom duzzadását, ödémáját, a hosszantartó ingerlések után sem. Ezt alátámasztják és egyben magyarázzák azok az irodalmi adatok, amelyek kimutatták egyrészt, hogy az izomban jelenlévő nociceptív afferensek lényegesen kevesebb SP-1 tartalmaznak, mint a hasonló bőr afferensek (McMahon és mtsai, 1984), másrészt, hogy plazmaextravazációt nem sikerült izomban létrehozni. Erre teleologikus magyarázat, hogy a fasciába zárt izom duzzadása magát az izmot veszélyeztetné. További

kísérleteinkben vizsgáltuk a térdizület és a hereburkok hátsógyök ingerlésre létrejövő mikrocirkuláció változásait. Megállapítottuk, hogy a vazodilatáció mindkét területen létrehozható, azonban kinetikájuk különbözik a bőrben valamint a izomban tapasztaltakkal. Ezek a kísérletek jól kiegészítik és alátámasztják a kismedencei szerveken (Szolcsányi, 1984, 1988; Pintér és Szolcsányi, 1995) és a meninx-ek erein tapasztalt antidiromos ingerléssel kiváltható mikrocirkuláció változás meglétét (Peitl és mtsai, 1999).

*Kísérleteink jelentőségét abban látjuk, hogy először mutattuk ki, hogy a harántcsíkolt izomban antidiromos vazodilatáció hozható létre, melyet capsaicin/RTX érzékeny szenzoros neuronok közvetítenek. Így az antidiromos vazodilatáció nemcsak a bőrben, viscerális szerveken, meninx-eken, hanem harántcsíkolt izomban is létrehozható; valószínűleg univerzális jelenség.*

### III. Capsaicin és resiniferatoxin (RTX) bőr és izom vérátáramlására gyakorolt hatásai

(6. és 7. közlemény)

Az alábbi munkából eddig nemzetközi fórumon prezentált poszter (7. saját közlemény) készült. A teljes közlemény a Naunyn-Schmiedeberg's Archive of Pharmacology-nak elküldve, a kézirat a disszertációhoz csatoltan található.

#### Bevezetés

Korábban kimutattuk, hogy az L4-L5 hátsógyökök elektromos izgatásával az ipsilaterális végtag bőrében és harántcsíkolt izmában antidiromos vazodilatáció hozható létre (I. II. fejezet). Ez az antidiromos vazodilatáció a capsaicin/RTX érzékeny rostokon keresztül jön létre. A capsaicin e szenzoros neuron csoporton kifejtett hatását az utóbbi években kiterjedten vizsgálták és a capsaicint, mint a szenzoros neuropeptidek "releaserét" használták.

Az így felszabaduló CGRP és SP vazodilatációhoz és plazmaextravazációhoz vezet. A capsaicin e sokat tanulmányozott hatásán kívül alig történtek vizsgálatok a capsaicin ún. direkt vazokonstriktor hatására vonatkozóan. A kezdeti vizsgálatok bizonyították, hogy kutyán és macskán a capsaicin hármásválasz reflexesen jön létre (Bezold-Jarisch reflex), ami species különbségeket mutat, de a direkt vazokonstriktor hatást nem lehetett felfüggeszteni a vagusok átmetésével, decerebrációval, valamint a vegetatív idegrendszeren ható anyagok alkalmazásával sem (Pórszász és mtsai, 1955; Toh és mtsai, 1955). A capsaicint close artériális injekcióban adva a direkt vazokonstriktor hatás szintén bekövetkezik, mindamellett, hogy a szenzoros neuronok közvetítésével szomato-viszcerális reflex jön létre (Webb-Peploe és mtsai, 1972; Virus és Gebhart, 1979). A direkt vasoconstrictor hatás kutyá periferiás érpreparátumán in vitro is létrejön (Toda és mtsai, 1972). Ebből következik, hogy valószínűleg a capsaicin e hatása inkább lokális hatás, mint reflexes válasz. Eldershaw és mtsai (1994) további bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy e vazokonstriktió a mesterséges oldattal perfundált patkány hátsó végtagon különböző csipős anyagokkal (resiniferatoxin, piperin) is kiváltható. Továbbá feltételezést nyert az is, hogy a vazokonstriktió létrehozó vanilloid receptorok altípusokba sorolhatók az oxigén felhasználás és a laktát termelés tekintetében (Cameron-Smith és mtsai, 1990; Colquhoun és mtsai, 1995). Ezek alapján célszerűnek látszott megvizsgálni a szenzoros neuronok és a vanilloid receptorok szerepét e helyi keringési jelenségben. Hogy minél jobban közelítsünk a fiziológiás körülményekhez, kísérleteinkben új módszert dolgoztunk ki, amely lehetővé teszi, hogy a mesterséges oldat helyett autolog vérral perfundáljuk az alsó végtagot és így a keringési reflexek útján létrejövő vérnyomásváltozások zavaró hatását kiküszöböljük. Ezzel a technikával a vérnyomástól teljesen függetlenül mérni tudjuk a perfúziós nyomást és a vérral perfundált alsóvégtag mikorcirculációs változásait.

## Módszerek

A kísérleteket 100 mg/kg thiobutobarbitállal altatott 250-450 him Wistar patkányokon végeztük. A jobb a. carotis communisban mértük a szisztémás vérnyomást, míg a bal v. jugularis a szisztémás anyagadás érdekében kanüláltuk. A légzőmozgásokat a tracheába vezetett Y kanül segítségével regisztráltuk. A kísérlet közben fellépő légzésmegállás esetén az állatokat 60/min frekvenciával és 4,2 ml térfogattal lélegeztettük. A maghőmérsékletet 37 °C-on tartottuk fűtőpad és infravörös lámpa segítségével.

A kísérlet előtt egy héttel az állatok egy csoportját (n=15) nembutil (40 mg/kg, i.p.) altatásban megoperáltuk. Egyik csoportjuknál (n=10) hasi behatolásból transzperitoneálisan átvágtuk a n. femoralist, a n. genitofemoralist valamint a n. ischiadicust. A másik csoportnál (n=5) a comb magasságában átvágtuk a n. ischiadicust és a n. saphenust. Az állatokat felébredésükig a kihülés elkerülése végett infravörös lámpa alatt tartottuk. Azokat az egyedeket, amelyeknél a következő egy hétben autotómiát észleltünk kizártuk a vizsgálatból.

Az egyik a. iliaca communist kanüláltuk 1000 U/kg i.v. heparin adása után. A kanül másik végét a bal a. carotis communisba vezettük, míg egy T elágazáson keresztül a perfúziós rendszert Spectramed P23XL nyomásmérővel kötöttük össze. A perfúziós kanült a kanül afférens szára és a T elágazás között perisztaltikus pumpára kapcsoltuk és a perfúziót 3 ml/min sebességgel megindítottuk. I.a. anyagadásra a perfúziós rendszert használtuk. Az előzetesen nem operált állatoknál akutan átvágtuk a n. femoralist, genitofemoralist és az ischiadicust. A mikrocirkulációs laser-Doppler áramlásmérő szondáit a perfundált végtag bőrére és izomzatára helyeztük. A regisztrálást Beckman polifiziográfon végeztük.

### Eredmények és következtetések

Capsaicint (0.3-10  $\mu\text{g}$ ) 0.01-0.03 ml térfogatú oldatban a perfúziós kanülbe i.a. adva a perfúziós nyomást dóziszfüggően emelte. Ez a perfúziós nyomásnövekedés 1-3 percig tartott. A szisztémás vérnyomás 3-5 s latenciával hirtelen esett a pulmonális kemoreflexnek köszönhetően, de ez a csökkenés a perfúziós rendszer miatt semmilyen zavaró hatással nem volt a perfundált alsóvégtag keringésére. A kontrollként alkalmazott fiziológias só is hatás nélkül maradt. A capsaicin a bőr és az izom mikrocirkulációjára kifejtett hatása ellentétes irányú volt. A harántcsíkolt izomban a perfúziós nyomásnövekedéssel párhuzamosan a vérátáramlás csökkenése követte, míg a bőrben csak vérátáramlás fokozódás jött létre. A mikrocirkulációban bekövetkezett változások sokkal variábilisabbak voltak, mint a perfúziós nyomás esetén. Capsaicin analóg resiniferatoxint adva (1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i.v.) az akut deszenzibilizáció létrejötté következtében a továbbiakban alkalmazott capsaicin teljesen hatás nélkül maradt mind a perfúziós nyomást, mind a bőr és izomzat vérátáramlását tekintve. Ez a gátló hatás tartósan fennállt és a capsaicin 100-szoros dóziséval (100  $\mu\text{g}$  i.a.) sem volt áttörhető. Az RTX adása után némely állatot átmenetileg lélegeztetni kellett a fellépő légzésbénulás miatt. A nem kompetitív vanilloid receptor antagonistá ruthénium vörös (2 mg/kg i.v.) a capsaicin perfúziós nyomásra, a bőr ill. az izom mikrocirkulációjára kifejtett hatásait szignifikánsan gátolta ( $p < 0.01$ ). A krónikusan denervált állatok két csoportja közt különbség nem adódott, így az adatokat egyesítettük. A denerváció szignifikánsan gátolta ( $p < 0.001$ ) a capsaicin okozta keringési válaszokat, de azokat teljesen nem szüntette meg. A megmaradó hatást azonban RTX adásával blokkolni sikerült.

Atropin (1 mg/kg i.v.), phentolamin (0.3 mg/kg i.v.) és propranolol (0.3 mg/kg i.v.) semmilyen gátló hatással nem volt a capsaicin fent említett hatásaira. Annak vizsgálatára, hogy az RTX mennyire volt szelektív a capsaicin okozta hatások gátlásában intraarteriálisan noradrenalin (0.5 és 1.0  $\mu\text{g}$ ) adtuk. A noradrenalin igen kifejezett perfúziós

nyomásnövekedést hozott létre, amelyet az RTX nem volt képes gátolni. A krónikusan denervált állatokban az oxytocin hatása nem változott és azt RTX adása sem befolyásolta.

*Eredményeink jelentőségét abban látjuk, hogy az eddigi irodalmi adatokkal ellentétben a capsaicin okozta vazokonstriktió létrejöttében a szenzoros neuronok csak bizonyos mértékig vesznek részt. Az RTX gátló hatása bizonyítja, hogy a vazokonstriktió receptorális úton jön létre, bárhol is helyezkedjenek el ezek a receptorok (szenzoros neuronon vagy másutt). Nem kizárt, hogy a vazokonstriktióért felelős receptorok különböznek vagy egész egyszerűen altípusai a vanilloid receptornak.*

#### IV. A fájdalom mechanizmusának vizsgálata „functional Magnetic Resonance Imaging” (fMRI) technikával

(8., 9. és 10. közlemény)

##### **Bevezetés**

A mágneses magrezonancia mint képkötő eljárás a XX. század utolsó két évtizedében került be a diagnosztikai módszerek fegyvertárába. Az első, igen rossz felbontású képet készítő készülékek megjelenése óta a technika hihetetlen mértékben tökéletesedett, napjainkban pedig az MRI tudományos kutatásban való felhasználásának új fejezete van kibontakozóban. Ez a funkcionális MRI (fMRI), amely nem pusztán az élő szervezet anatómiai viszonyait vizsgálja, hanem a dinamikus élettani, farmakológiai változásokat próbálja nyomon követni. Éppen ezért egyre gyakrabban nevezik az eljárást "pharmacological" MRI-nek (phMRI) is.

Éber emberen végzett vizsgálatokból ismert az, hogy perifériás ingerekre a projekciónak megfelelő agyterületeken aktiváció hozható létre, melynek hátterében az idegelemek tüzelése és élettani paraméterek lokális megváltozása áll. A változások fMRI-vel nyomon követhetők (Kwong és mtsai, 1992; Ogawa és mtsai, 1992) és alapvetően 2 okra



vezethetők vissza, melyek az MRI működésének ismeretében kézenfekvőek: 1. Az adott területen a lokális perfúzió, vérátáramlás (blood flow) változása, valamint 2. az adott területen az oxigén felhasználás változása (oxihemoglobin/deoxihemoglobin arány). Ezen alapul a Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) kontraszt (Ogawa és mtsai, 1990).

Állatkísérletekben kimutatták, hogy a patkány mellső mancsának vagy egyetlen szál bajuszának elektromos ill. mechanikai ingerlésével a szenzoros kéregben fMRI-vel detektálható aktivitás változás jön létre (Hyder és mtsai, 1994; Kerskens és mtsai, 1996). Felvetődött a kérdés, hogy a periférián alkalmazott fájdalominger, amely az extenzív preparálást igénylő elektrofiziológiai módszerrel jól jellemezhető gerincvelői szinten (Dickenson és Sullivan, 1987), a noninvazív fMRI-vel vajon detektálható-e.

### **Módszerek**

Kísérleteinkhez fájdalomingerként a jól ismert fórmalin s.c. fecskendezési módszert választottuk (Dubuisson és Dennis, 1977), mivel ennek időbeli lefolyása kb. 1 óra és ezen belül is 2 fázis különíthető el. Egy azonnali (I. fázis) fájdalomreakció (amely az éber állaton az injiciált talp rázásában, nyalásában és tehermentesítésében nyilvánul meg). Ez a szakasz 5-10 perc alatt lezajlik, majd egy 5-10 perces eseménytelen időszak következik, amelyet ismét fájdalomreakció (II. fázis) követ, amely 40-45 percig tart. Ezek a változások elektrofiziológiailag is nyomon követhetők (Dickenson and Sullivan, 1987).

A 100-120 g-os him Sprague-Dawley patkányokat 1 %-os izofluránnal és nitrogén oxidul/oxigén 2:1 arányú keverékével altattuk maszkon keresztül. A házilag konstruált rezonátort, amely a speciális igényeknek megfelelően került megtervezésre (Alderman és Grant, 1979), az állatok hátára erősítettük a mozgási artefaktumok lehető legteljesebb kiküszöbölése érdekében. Az állatok egyik talpának bőre alá tüt (27-es) szűrtünk, amelyet egy kanulón keresztül a mágnesen kívül elhelyezkedő Hamilton fecskendővel kötöttünk össze.

Ezen keresztül adtuk a formalint. A lidokainnal végzett kísérletek esetén még egy hasonló injekciós rendszert alakítottunk ki. A kísérletekhez a Rapid Acquisition for Relaxation Enhancement (RARE) pulzus szekvenciát használtuk. MRI beállítási paraméterek: Repetition time (TR): 1750 ms; Echo time (TE): 25 ms; Effective TE: 100 ms; RARE faktor: 8; Field of View (FOV): 30 mm X 30 mm; szeletvastagság: 1 mm; mátrix méretek: 256 X 128, ami 117  $\mu\text{m}$  X 234  $\mu\text{m}$  pixel méretet jelent; átlagolás (averages): 4. A kontroll felvételek (a továbbiakban image) után adtuk be az 50  $\mu\text{l}$ , 5%-os formalint és további 20 image-et készítettünk. A lidokainnal végzett kísérletek esetén csak 5 kontroll image-et használtunk és a lidokaint (50  $\mu\text{l}$ , 2 %) a harmadik kontroll image után adtuk. Az image-eket off-line értékeltük és a bal-jobb oldal identikus területeinek relatív intenzitás értékeit hasonlítottuk össze. Az aktivált területeket az alábbi módon tettük láthatóvá: A formalin adás utáni image-eket kivontuk a stimuláció előttiből, majd aluláteresztő mátrix szűrésnek vetettük alá és az intenzitás határok megfelelő megválasztásával kivilágosítottuk az érintett területet. Legvégül ezt szuperponáltuk a stimuláció előttire.

## Eredmények és következtetések

A kontroll image-ek intenzitásbeli változásai 3 %-on belül maradtak. Az 50  $\mu$ l 5 %-os formalin injekcióját követően az ipsilaterális oldalon a gerincevelőben egy azonnal létrejövő jelintenzitás csökkenés volt megfigyelhető, míg a kontralaterális oldal változatlan maradt. A differencia image-ek helyi intenzitásváltozást mutattak az L4-L5 szintnek megfelelően az ipsilaterális oldalon. A relatív intenzitásváltozás maximuma  $12.7 \pm 3.7$  % (mean  $\pm$  sem) volt a kontroll image-ekhez viszonyítva. Ettől kezdve a jelintenzitás folyamatosan csökkent, míg a formalin adását követő 40. percre elérte  $4.5 \pm 1.3$  %-os szintet. Nem volt jele azonban a két fázis kialakulásának, ami az összehasonlításképpen elvégzett formalin injiciálást követő magatartásban (talpnyalás) látható volt (I fázis: 1-5 perc; 5 perc eseménytelen periódus; II fázis: 40-45 perc). A lidokainnal végzett kísérletek bizonyítják, hogy előzetes helyi érzéstelenítéssel a formalin indukálta jelváltozás kivédhető.

Ezen kísérletek először szolgáltattak bizonyítékot arra, hogy a fájdalom gerincevelői szinten fMRI-vel detektálható, láthatóvá tehető. E jelenséget a vizsgált állatok 40 %-ában sikerült kimutatni, míg a többiben változás nem volt észlelhető. Ennek hátterében valószínűleg az altatóként használt izoflurán e rendszerre kifejett hatása áll. A kísérleti eredmények elemzése során sikerült kizárni a mozgási artefaktum lehetőségét a síkbeli elmozdulás mértékének meghatározásával. Azonban a nem síkbeli mozgás lehetőségét kizárni nem tudtuk. A mozgási artefaktum ellen szól az is, hogy az észlelt jelenség reprodukálhatóan mindig ugyanazon anatómiai területen fordul elő, ami mindig megfelel a n. ischiadicus vetülésének. Az érintett terület diffúz megjelenése több okra vezethető vissza: 1. Szeletvastagság (kísérleteinkben 1 mm), ami a gerinccsatorna átmérőjéhez viszonyítva vékonyabb és így rosszul definiált határokhoz vezethet. (A szeletet vastagabbra véve csigolya részletek is fokozottan bekerülnek, ami az image minőségét és értelmezhetőségét rontja.) 2.

Szűrés, ami a zaj csökkentése érdekében került alkalmazásra, ronthatja a síkbeli felbontást. 3.

Biológiai variabilitás.

C rostok izgatása a gerincvelőben SP, NKA, CGRP felszabadulást hoz létre, melyek képesek a lokális mikrocirkulációt megváltoztatni (vazodilatáció), mindamellett, hogy a transzmisszóban szerepet játszanak (Schaible és mtsai, 1990). A két fázis hiánya arra enged következtetni, hogy az fMRI-vel észlelt jelenség nem párhuzamosan követi a neuronális tüzelést. Az 5 perces, két fázis közötti csöndes periódus valószínűleg rövid idő ahhoz, hogy az fMRI jelintenzitásban restitució jöjjön létre és így ez a rövid periódus mintegy fedve marad. A vazoregulációban a lassú változások sokszor jellemzők.

*Eredményeink jelentőségét abban látjuk, hogy egy új noninvazív módszerrel, az fMRI-vel sikerült láthatóvá tenni a formalin által létrehozott fájdalom következtében kialakuló változásokat gerincvelői szinten. A módszer további tökéletesítése, a jövőben lehetővé teheti analgetikus anyagok rutin vizsgálatát.*

## *Általános megbeszélés*

### *A capsaicin érzékeny nociceptív afferensek funkcionális vizsgálatainak néhány módszertani szempontja.*

Laboratóriumunkban több kísérleti elrendezés kialakításában vettem aktívan részt melyek a capsaicin érzékeny afferensek, mind szenzoros, mind effektor funkciójának vizsgálatát tette lehetővé. E módszerek kivétel nélkül in vivo rendszereken kerültek beállításra, mindig az adott kérdésfelvetéshez szabottan. Ebből a szempontból az értekezésben részletesen ismertetett kísérleti eredmények és mellékelt közlemények képezik munkám döntő részét, de az alábbiakban röviden megemlítem azokat a módszertani fejlesztéseket, melyekben társszerzőként vettem részt és ezek a munkák nem képezik az értekezés részét. Ezekben a közleményekben valamint az MRI gyógyszerkutatásban való felhasználásáról szóló összefoglaló munkában a hozzájárulásomat az alábbiakban foglalom össze.

#### **A. Szenzoros funkciók vizsgálata (elektrofiziológia, nocicepció, MRI)**

1. Az asphyxia és kísérletes hypercapnia, valamint hypoxia által kiváltott akciós potenciálok vizsgálatára in vivo módszert állítottunk be melyben a gerincvelői hátsógyökökről és a n. saphenusról elvezetett „multifiber” aktivitás regisztrálása alapján a primer afferens neuronok centrális, perifériás és axonális támadáspontjának elkülönítése volt a cél in vivo körülmények között (Pethő és mtsai., 1999).
2. A Sandoznál (később Novartis) eltöltött postdoc munka során a munkacsoportban egyedüli orvos végzettségüként alkalmam nyílt mágneses magrezonancián alapuló képalkotás módszertanával megismerkedni, és a kísérletek során feladatom elsősorban az orvos-biológiai aspektusok kézbevétele volt, mindamellett egyéb vizsgálatok során használatos MRI szekvenciák optimalizálásában és képfeldolgozó algoritmusok programozásában is

résztvettem. (Azóta a képfeldolgozáshoz külön állást létesítettek.) A kísérletek célja az érző pálya működésének, a fájdalomhoz kapcsolódó magnetikus állapotváltozások MRI számára detektálható és kép formájában megjeleníthető változásaival foglalkoztak, melynek célja volt egy olyan módszer beállítása, mely a fájdalomcsillapítók rutin vizsgálatát teszi lehetővé (Pórszász és mtsai., 1997; Rudin és mtsai., 1999). A functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) alkalmazása igen modern módszertani megközelítés több kutatási területen. Ez a módszer melynek fizikai alapjait a Zürichből származó Felix Bloch (Bloch és mtsai., 1946) és az amerikai Edward Mills Purcell (Purcell és mtsai., 1946) rakta le (fizikai Nobel-díj, 1953) napjainkban is rohamosan fejlődik, egyre jobb felbontást és egyre gyorsabb mérésadatgyűjtést tesz lehetővé, melyhez jelentős mértékben járult hozzá a számítástechnika robbanásszerű fejlődése. Mindez alapfeltételét képezi a élettani, kóreltani mechanizmusok funkcionális vizsgálatának, amit a mozaikszóban szereplő 'f' betű jelez.

3. A capsaicin deszenzibilizáció antinociceptív hatásának mérésére a klasszikus „hot plate” és „tail flick” teszt nem alkalmas. Ezek a módszerek nem a hőküszöb mérésén alapulnak, hanem küszöb feletti hőmérséklettel kiváltott elhárító reflex latenciaidejét mérik. A klasszikus ellentmondó adatokkal szemben lehetséges volt a capsaicin deszenzibilizáció forró ingerekkel szembeni analgetikus hatásának a mérése (Szolcsányi, 1985) hőküszöb mérés alapján, mely elrendezésben az állat lábának vagy farkának 1-1 C°-kal növekvő hőmérsékletű vízbe mártásával volt meghatározható a küszöbérték. Az intézetben kifejlesztésre került (Bakai János és mtsai.) olyan forró lap módszer, melyben a hőmérséklet 4 C°/min értékkel folyamatosan emelhető és így pontosan meghatározható a talpnyalást kiváltó nociceptív hőküszöb. A módszer állatkísérletes tesztelése, valamint gyógyszergyári vizsgálatoknál potenciális analgetikumok tesztelése volt a feladatom. E téren a módszertani fejlesztés jelentőségét az irodalmi adatok is alátámasztják (Tjolsen és mtsai., 1991).

## **B. Szenzoros idegvégződésekből felszabaduló mediátorok efferens vaszkuláris hatásai**

A szenzoros neuron efferens funkciójának vizsgálatában, az antidiromos vazodilatáció in situ méréséhez a mikrocirkulációs laser-Doppler vértáramlás mérő készülék beállításában és a mérés kivitelezésében vettem ki részemet. Ilyen méréseket több különböző területen is folytattunk, így például bőrön és harántesíktolt izomban, ahol gerincvelői hátsággyök ingerlést végeztünk (Pórszász és Szolcsányi, 1994), a gyomor szerózán (Abdel-Salam és mtsai., 1996) valamint a dura materen és az ornyálcakahártyán a ggl. trigeminale antidiromos ingerlés hatásának vizsgálatában (Peitl és mtsai., 1999).

Új módszerként került kidolgozásra a patkány alsóvégtag saját vérrel történő perfúziójának beállítása, amivel az intraarteriálisan adott capsaicin által kiváltott vasoaktív válaszok laser-Dopplerrel történő vizsgálata vált lehetővé.

Az értekezés azokon a kísérleti eredményeken alapul, melyek során a módszer beállításán kívül nagyobb szerep jutott számomra a kísérletek döntő részének tervezésében, kivitelezésében, kiértékelésében és megírásában, így a továbbiakban csak ezekről szólok részletesen.

## **C. Az értekezés kísérleti eredményeinek módszertani háttere**

### **• Nocicepció vizsgálata fMRI-vel**

A disszertációban a fájdalom útjának egy kis, de talán jelentőségében igen fontos szakaszát vizsgáltuk fMRI technikával (Pórszász és mtsai., 1997). A cél annak eldöntése volt, hogy lehetséges-e a módszert analgetikus szerek hatásvizsgálatára alkalmazni, erre ugyanis nem voltak korábbi adatok. A módszer e célra történő felhasználásával a következő lehetőségeket és korlátokat kellett figyelembe venni.

Az MRI-vel történő funkcionális képkalkotás alapja, hogy a képeket sorozatban kell készíteni, amely felöleli a beavatkozás előtti és a beavatkozás utáni képeket. 1-1 kép használata nem megoldható, mivel a vizsgált jelenség olyan kis eltéréssel jár, hogy feltétlen szükség van több képre, amit képpontonként számítógéppel átlagolni kell. Az átlagolt kontroll és beavatkozás utáni képek képpont intenzitás értékei azután kivonásra kerülnek. A változás e differencia képen jelenik meg. Az általam végzett kísérletek során a T2-weighted RARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) szekvenciát használtuk, ami igen érzékeny a perfúzió változására, aminek következménye hogy a mágneses térben mozgó spinek jelének azonos fázisa csökken, így a perfúzió növekedése jelcsökkenéshez vezet. A jelcsökkenéshez az is hozzájárul, hogy az oxí/deoxihaemoglobin hányados az aktív helyeken lokálisan megváltozik, így mintegy endogén kontrasztanyagként szerepel a paramagnetikus deoxihaemoglobin jelenléte (negatív BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent contrast)).

E módszer, de egyáltalán az MRI számos előnnyel rendelkezik. Noninvazív, nem jár sugárterheléssel, gyors (az acquisition time igen rövid lehet, a szekvencia és annak paramétereinek megfelelő megválasztása esetén), nagy felbontóképessége a PET-tel szemben nagy előny, verzalitása nagyon sokféle experimentális vizsgálatra teszi alkalmassá (stroke és agyi ischaemia egyéb területen lévő occlusiv artériás betegségek, rheumatoid arthritis, osteoarthritis, immunológia (transzplantátumok kilökődésének vizsgálata), tumor modellek, szívbetegségek (MI, hypertophiák), metabolikus betegségek pl. diabetes mellitus (itt elsősorban a spektroszkópia jön számításba), fertőző betegségek, tüdő, gastrointestinalis rendszer és a bőr). A target specifikus kontrasztanyagok pedig új fejezetet nyitnak az MRI felhasználásában kezdve a Gd(DTPA)-val (gadolinium dietiléntriamin pentaacetát), ami a vesén keresztül ürül, így a vese funkcionális vizsgálatára használható, de újabban antitestekkel is kötésre került kontrasztanyag. További kísérleteinkben superparamagnetikus vas-oxid nanopartikulát (Endorem) használva a patkány mellő végtagjának elektromos izgatásával



(5V; 2Hz; 0.5 ms) a patkány szenzoros kérében aktivációt figyeltünk meg Isoflurane narkózisban (Rudin és mtsai., 1999), mely sokkal intenzívebb és reprodukálhatóbb volt, mint ahogy az korábban az irodalomból  $\alpha$ -chloralose narkózis esetén ismert volt (Gyngell és mtsai., 1996). A műszer hátrányára írható a mozgásra való érzékenysége, mely főleg állapotokon okoz problémát, így azt mindig altatni kell, ami pedig hatással lehet a vizsgált jelenségre. Ebből következik, hogy a szív, a tüdő és gasztrointesztinális rendszer vizsgálata gyors szekvenciát és az előbbi kettő esetén szinkronizálást igényel. Hasi szervek vizsgálata esetén is a légzés-triggerelt mérésadatgyűjtés csökkenti a mozgásból származó hibákat.

E drága módszertani megközelítéshez azért folyamodtunk, mert jelenleg nem rendelkezünk olyan nem magatartást vizsgáló módszerrel amely noninvazív módon többszöri mérést tesz lehetővé a fájdalomra ható vegyületek vizsgálata során. A cél az állatszám csökkentése, a mérés invazivitásának minimálisra szorítása és az időegység alatt lemérhető állatok számának növelése volt. A jelenlegi, a rutin vizsgálatban használatos módszerek nagy állatszámot igényelnek, sokszor nem elég érzékenyek (álnegatívak), sokszor más is befolyásolja a mérés eredményét (álpozitívak) és csak némelyikük tesz lehetővé többszöri mérést azonos állaton. Jelenleg a fájdalmat a magatartás-változásokon kívül elektrofiziológiai módszerekkel lehet kvantifikálni. Így a perifériás idegről történő elvezetés, mind *in vivo*, mind *in vitro* (Kress és mtsai., 1992) elvégezhető. Gyógyszergyári rutin módszerként a hátsószarvról elvezetett elektromos aktivitás mérése vált be (Dickenson és Sullivan, 1987). E két módszer azonban invazív és a kísérleti állatot csak egyszer lehet felhasználni, így krónikus vizsgálatra alkalmatlan. Szinte mindegyik éber állaton végzett tesztől elmondható azonban, hogy a nocicepcióval együtt járó magatartási változást mérik, nem önmagukban a nocicepciót vagy annak valamilyen biokémiai-fiziológiai megjelenését. Ilyen a tail-flick teszt (D'Amour és Smith, 1941), a paw pressure test (Randall és Selitto, 1957), a hot-plate teszt (Woolfe és MacDonald, 1944), az increasing hot-plate teszt (Hunnskaar és mtsai., 1986; Tjolsen és mtsai.

1991), a formalin teszt (Dubuisson és Dennis, 1977), a writhing teszt (Koster és mtsai, 1959), a kolon disztenzió (Gebhart és Ness, 1991). Míg az előbbieken említett akut nocicepció létrehozásának modelljei régebb óta elfogadottá váltak, addig a neuropátiás krónikus fájdalom modellezésére az utóbbi időben került bevezetésre néhány módszer, így a neróma modell (Wall és mtsai, 1979), a n. ischiadicus krónikus konstriktója (Bennett és Xie, 1988), a n. ischiadicus részleges lekötése (Seltzer és mtsai., 1990), a gerincvelői idegek lekötése (Kim és Chung, 1992), perifériás idegek fagyasztása (DeLeo és Coombs, 1991). A diabéteszes hiperalgéria és spontán fájdalom jól modellezhető patkányban streptozotocinnal létrehozott diabéteszsel (Ahlgren és mtsai., 1992). A centrális fájdalom jó modellje a fotolézióval létrehozott gerincvelő károsodás (Xu és mtsai., 1992). E módszerek között különbségek vannak érzékenységben és a kivitelezés bonyolultságában.

Az MRI-vel végzett kísérletes eredményeink bizonyítják, hogy a formalin intraplantaris injekció kiváltotta nocicepció hátsószarvi/gyöki aktivációt kiváltó hatása a gerencvelőben fMRI-vel vizualizálható, az azzal együttjáró oxi-/deoxihemoglobin és/vagy a lokális perfúzió megváltozása talaján kialakuló eltérő magnetikus viselkedés következtében. Rutin farmakológiai vizsgálatok kivitelezéséhez a módszer további tökéletesítésére van szükség.

#### • Antidrómos vazodilatáció vizsgálata laser-Dopplerrel

A mikrocirkuláció laser-Dopplerrel történő mérésének előnye, hogy gyors, könnyen kivitelezhető, on-line mérési eredményt szolgáltat és a mérés folyamatos. Hátrányára irandó, hogy nem ad abszolút értéket az áramlás mennyiségére vonatkozóan, így elsősorban önkontrollos kísérletekben alkalmazható, ahol egy adott beavatkozás előtti és beavatkozás utáni állapot összehasonlításából származó százalékos eltérés írható le. A változás mértékét gyorsan lezajló folyamatok esetén a csúcscsúcsösszehasonlításával, míg elhúzódó jellegű

változásoknál a görbe alatti területek viszonyításával lehet megadni. További „hátrányként” jelenik meg a szenzitivitás, így a mérést zavarja a mozgás, amely származhat magából a vizsgált objektumból (pl. a szív felszínén a mérés lehetetlen, de még az intraoperatív humán agyfelszíni méréseket is zavarja az agy vérnyomással szinkron pulzációja), vagy a környezetből (vibráció). Zavaró tényező továbbá a külső megvilágítás, így az állat melegítésére szolgáló infravörös lámpa is. Ezekről a hátrányokról eltekintve, amelyek egy része a preparátum gondos összeállításával kivédhető, jobb módszer a szöveti perfúzió meghatározására a laser-Doppler technika, mint a radioaktív mikrogyöngyök használata, ami a capillárisokban való teljes elakadást feltételezve is a perfúzió egy adott pillanatról ad felvilágosítást, de sőtötölés és a mérés ismételhetőségének korlátai is további problémákat vetnek fel. Előnyösebb az O<sub>2</sub> polarográfias módszernél is, mivel az a vér O<sub>2</sub> szaturációjának változását méri egy adott ponton, de magáról a vértáramlásról nem ad információt. A thermodiffúziós flowmetriát pedig nagyban befolyásolja a környezeti, valamint a vizsgált objektum hőmérséklete és ez sem ad direkt felvilágosítást a perfúzióról. Előnyösebb a hidrogén-clearance metodikánál is, mivel a laser-Doppler folyamatos mérést tesz lehetővé, míg a kimosási technikák (legyen az hidrogén, <sup>85</sup>Kr vagy <sup>135</sup>Xe) egy adott pillanat vértáramlásáról tájékoztatnak. A versenyt egyedül az előzőekben ismertetett functional Magnetic Resonance Imaging veszi fel, ez azonban jelenleg igen drága eljárás. Érdekeség azonban, hogy a laser-Doppler biológiai kutatásban való megjelenése előtt Holton és Perry (1951) nyúlfülön bizonyította az antidrómos vazodilatáció meglétét. A nyúl fülét perspex lemezek közé helyezték és fényt bocsátottak keresztül rajta egy zöld színszűrő közbejöttével. A fény így a haemoglobin abszorpciós tartományába esett. Az átellenes oldalon pedig egy fotodióda segítségével regisztrálták a fényabszorpció változását. E technikával a laser-Dopplerrel mérhető változásokhoz teljesen hasonló görbéket regisztráltak. E módszer

hátránya, hogy csak transzparens biológiai objektumon használható (mint pl. a nyúl füle és amelyhez hasonlatos igen kevés van).

- **Laser-Doppler vizsgálatok patkány hátsóvégtag perfúzióival**

A módszerfejlesztés célja volt, hogy az alsó végtag különböző szövetein párhuzamosan vizsgálni tudjuk a lokális mikrocirkuláció változást a szisztémás vérnyomástól függetlenül. A perifériás érellenállás in vivo kísérlet közbeni közvetlen mérésére az irodalomból jól ismert az alsóvégtag in vitro arteficiális sóoldattal való perfundálása (Eldershaw és mtsai., 1994). A módszer azonban nem alkalmas a mikrocirkulációra gyakorolt hatás vizsgálatára. Az általunk bevezetett módszerrel jól vizsgálható a farmakonok érrendszerre való hatásai mind a perfúziós nyomás, mind a különböző szöveteken mérhető mikrocirkuláció változás tekintetében a vérnyomás esetleges zavaró hatásától függetlenül. Előnye a kidolgozott eljárásnak, hogy lehetővé teszi a mikrocirkuláció laser-Dopplerrel történő vizsgálatát, ami az arteficiális sóoldattal történő perfúzió esetén kivitelezhetően. A két módszert a capsaicin perfúziós nyomást növelő hatásában azonos eredményt adott, azonban többlet információhoz jutottunk a vérrrel való perfundálás révén. E metódika használatával vizsgáltuk a capsaicin vazokonstriktor hatását és közvetett bizonyítékot találtunk arra, hogy a capsaicin receptora nemcsak szenzoros neuronon helyezkedik el. A régről ismert capsaicin okozta vazokonstrikción létrejött háttérben így új regulációs mechanizmusok húzódnak meg. A modell a jelenleg még nem létező capsaicin-receptor altípus-szelektív farmakonok jövőbeli vizsgálatánál jelentőséggel bírhat.

A disszertációban szereplő kísérletes munkák problémafelvetése mind a szenzoros neuron működésére vonatkoznak. A capsaicin szelektív támadáspontja miatt alkalmas farmakológiai eszköz a fiziológiai jelenségek vizsgálatára. 1997-ben sikerült a capsaicin membrán receptorát klónozni (VR-1, vanilloid receptor 1), mely 838 aminosav hosszú fehérjéből áll, 6 transzmembrán régióval rendelkezik (Caterina és Mtsai., 1997). A klónozással direkt módon bizonyítottá vált a feltételezett capsaicin receptor létezése (Szolcsányi és Jancsó-Gábor, 1975), és így alátámasztást nyert az egyrost vizsgálatok alapján már bizonyított szelektív támadáspont a polimodális nociceptorokon, melyek forró ingerekkel is aktiválhatók. A klónozásnak nagyon fontos gyakorlati jelentősége is van. Humán capsaicin receptor klónozása révén gyógyszergyári úgynevezett „high throughput screening” módszerrel nagyszámú vegyület szelektív kötődése és a kation csatorna működését befolyásoló hatása vizsgálható in vitro rendszerben. Hasonló receptor klónozás minden esetben rövid időn belül az alapvegyülettől jelentősen eltérő struktúrájú „lead”, vezető molekulák előállítását eredményezte. A capsaicin és resiniferatoxin esetében analgetikumként felhasználható blokkoló hatás csak előzetes izgatás után alakul ki. Új struktúrák esetleg alkalmasakká válhatnak előzetes izgatás nélküli szelektív nociceptor blokkolásra is. A jelenlegi fájdalomcsökkentő szerek három nagy csoportba sorolhatók: morfin és más kábító fájdalomcsillapítók, ciklooxigenáz gátlók (pl. aszpirin) és a helyiérzéstelenítők, melyek nem tesznek különbséget az érzet kvalitások között. A capsaicinnal végzett kísérletek jelentőségét az adja, hogy perifériás neuronon ható analgetikumok fejlesztéséhez járulhat hozzá, amellyel jelenleg nem rendelkezünk. A kérdés illetően felvetésének értelmét csökkenti, hogy a capsaicin

receptorhoz kötődő endogén fájdalomkeltő anyagot mindeztől nem sikerült azonosítani és a capsaicin antagonistá capszepine sem bizonyult fájdalomcsillapító anyagnak, annak ellenére, hogy magatartási vizsgálatok során antinociceptív hatását figyelték meg (Santos és Calixto, 1997). A mostani felfogás szerint a capsaicin receptorának fiziológias aktivátora a savas pH (Liu és Simon, 1994; Bevan és Geppetti, 1994) és a hő (Reichling és Levine, 1997; Nagy és Rang, 1998). 6.3 -as pH mellett a 35°C is már receptor aktiváció jöhet létre (Tominaga és mtsai., 1998). E két tényező a gyulladt szövetekben is jelen van és a receptorok izgalmét okozhatják. Tovább bonyolítja a képet, hogy az asphyxiával létrehozott antidrómos szenzoros neuron aktiválódás nem bizonyult capsaicin érzékenynek (Pethő és mtsai., 1999), valamint hogy a patkány trigeminális ganglion antidrómos izgatásával létrejövő vazodilatáció a durán szintén nem capsaicin-érzékeny rostok közbejöttével jön létre (Petil és mtsai., 1999). Ez utóbbi kísérletek a migrén patomechanizmusának vizsgálatához szolgálnak adalékkul.

A capsaicin állatkísérletes alkalmazása során többféle beadási utat választhatunk. Különbség van az alkalmazott dózisok között is attól függően, hogy a capsaicin izgató hatását kívánjuk kiváltani vagy deszenzitizáció létrehozása a cél. A capsaicint patkánynak i.v. adva már 0.8-1.6 µg/kg dózisban kiváltja a pulmonális vagus C-rostokon keresztül a rá jellemző hármás választ: bradikardia, hipotónia, apnoe (Coleridge és Coleridge, 1986), míg magasabb rendű állatokban (kutya, macska) a reflex válasz kiváltásához a patkányon hatásos dózis tízszerese-harmincszorosa szükséges (Pórszász és mtsai., 1955; Toh és mtsai., 1955). Ezen dózisok többször reprodukálható választ hoznak létre, deszenzibilizáció nem jön létre. Kísérleteinkben kimutattuk, hogy tengerimalacban a hármás válasz helyett jelzett hipotenzio és tachypnoe jön létre, melynek kiváltásához 5-20 µg/kg capsaicin szükséges (Pórszász és Szolcsányi, 1992). Érdekes, hogy madarakban a capsaicin hatástalan és valószínűleg csak emlíőskön hat (Szolcsányi és mtsai., 1986). Capsaicint a patkány hátsó lábába intrarteriálisan adva (close arterial injection) már 0.5 µg a n. saphenusról elvezethető

idegaktivitást eredményez, mely többedszeri ismétlésre is kiváltható (Szolcsányi és mtsai. 1988). A saját vérel perfundált alsóvégtag preparátumunkban 1 µg capsaicint adtunk, melyet hatáscsökkenés nélkül ismételni tudtunk. A capsaicin intrarteriális injekciójának hatása 3 tényezőtől tevődik össze. 1. A periférián lévő nociceptorokból reflex mechanizmus útján vazokonstriktció jön létre (Webb-Peploe és mtsai, 1972). 2. Direkt vazokonstriktció az ér által ellátott területen (bőrben vazodilatáció). 3. A szisztémás keringésbe jutva az i.v. adásnál leírt reflex kiváltása. A szomato-viszcerális reflex kikerülése érdekében kísérleteinkben a végtaghoz futó idegeket átvágtuk, míg a szisztémás keringésbe jutó capsaicin hatását és egyáltalán a vérnyomás változásaiból származó hatásokat a perisztaltikus pumpa közbeiktatásával kerültk el. Így a preparátum alkalmassá vált a direkt hatás elemzésére. A capsaicin izgató hatása fájdalom kiváltására is alkalmas 80 µg/ml capsaicin oldat 100 µl-ének intraplantáris injekciójával (Sakurada és mtsai., 1992). Fájdalomcsillapítók vizsgálatok e fájdalom tesztben a capsaicin beadást követő 5 perc alatti talp nyálással eltöltött idő körül mérésre. A capsaicin szenzoros neuron blokkoló és deszenzibilizáló hatásának kiváltásához az izgató hatás dózisanak/koncentrációjának többszöröse szükséges. Így nagy dózisu szubkután injekciókkal (3-4 injekció, összdózis 200-400 mg/kg) patkányon deszenzibilizáció érhető el. A deszenzibilizáció eléréséhez megbízhatóbb a többszöri adás, mint a csak egyszer alkalmazott 50 mg/kg dózisu capsaicin. Morfológiailag ezt követően a n. saphenusban a myelin hüvely nélküli axonok mintegy 50%-ának degenerációja és az agytörzsben valamint a gerincvelőben a capsaicin-szenzitív afferensek centrális projekciójának megfelelően extenzív degeneráció figyelhető meg (Jancsó és mtsai., 1985). A gerincvelői hátsógyökökben az axonok száma nem csökken (Chung és mtsai., 1985), így a perifériás és centrális terminálisok degenerációját nem kíséri az érintett neuronok pusztulása (Szolcsányi 1993). Az 1%-os capsaicin lokális periaxonalis/perineurális alkalmazása szintén rostpusztuláshoz vezet (Jancsó és mtsai. 1980). Érzékeny funkcionális vizsgálatokból (mint pl. a laser-Dopplerrel mért

antidrómos vazodilatáció) látható azonban, hogy az így (ráadásul dupla töménységű (2%) capsaicin oldatot használva) létrehozott deszenzibilizáció után is maradnak capsaicin-érzékeny rostok, így a későbbiekben részletezésre kerülő RTX akut deszenzibilizáló hatásának kihasználására is szükség van (Pintér és mtsai., 1997).

A capsaicint izgató hatása ellenére ma már széles körben alkalmazzák lokális analgetikus hatás kifejtésére terápiás célból. Így terápiás felhasználást nyert az alábbi kórállapotokban: cluster fejfájás, trigeminus neuralgia, faciális fájdalom, neuralgia postherpetica, mastectomia utáni fájdalom, neuropathia diabetica, reflex sympathicus dystrophia, Guillain-Barre syndrome, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, vasomotor rhinitis, apocrine chromhidrosis, psoriasis, vulvaris vestibulitis, pruritus. A Capsaicin Study Group multicentrikus, kettős vak vizsgálatokban, kontrollnak oldószert alkalmazva bizonyította a 0.075%-os capsaicin krém hatékonyságát diabetesz neuropátiában (Capsaicin Study Group, 1991). Az alkalmazással kapcsolatos fő probléma hogy kezdetben égő érzést okoz és a fájdalmat csökkentő hatás csak a deszenzibilizáció létrejöttékor következik be. Ezért izgató hatás nélkül deszenzibilizációt kiváltó hatóanyag kifejlesztése kívánatos lenne. Magyarországon capsaicin tartalmú kenőcs Capsoderma és Nicoflex néven van forgalomban. Újabban leírásra került egy capsaicin analóg, a civamid, ami orálisan hatékonynak bizonyult mint antinociceptív anyag a gyulladáshoz kiváltotta hiperalgégiában és az ideg sérülés okozta taktilis allodíniában (Hua és mtsai., 1997).

Kísérleteinkben többször alkalmaztuk a resiniferatoxint, a capsaicin szerkezeti analógját, amely a capsaicinnél több nagyságrenddel potensebb hatóanyag (Szállasi és Blumberg, 1989; Szolcsányi és mtsai., 1991). Ez a farmakon intravénás adásnál nem vált ki Bezold-Jarisch reflexet és így alkalmas arra, hogy a deszenzibilizációt akután hozzuk létre (Szolcsányi és mtsai., 1991). Az anyagnak ezt a tulajdonságát felhasználva vizsgálhattam a



capsaicin érzékeny afferensek szerepét önkontrollosan a két (a normál és a deszenzibilizáció utáni) állapot különbség alapján.

Az általunk RTX-szel végzett kísérletekből arra következtetünk, hogy az RTX képes deszenzibilizálni a szenzoros neuronon kívül elhelyezkedő capsaicin receptorokat is, hiszen krónikus denerváció után a capsaicinnel kiváltott vazokonstriktiót teljesen blokkolni lehetett 1 µg/kg intravénásan adott RTX-szel. Ez először szolgált in vivo rendszerben bizonyítékot arra, hogy a capsaicin receptor nemcsak szenzoros neuronon helyezkedhet el és hogy a deszenzibilizáció ezeken a receptorokon is létrehozható. Extraneuronális elhelyezkedéséről számoltak be újabban Bíró és munkatársai (1998), akik hízósejteken írtak le capsaicin receptort. A capsaicin és RTX érzékenység alapján e receptorok altípusokba sorolhatók: C-típus, ill. R-típus (Bíró és mtsai., 1998).

A közeljövőben molekuláris biológiai kutatás lesz az, amely a receptor altípusok meglétét igazolni fogja és így lehetővé válik a receptor altípus-szelektív anyagok gyors vizsgálata in vitro rendszerekben, ami a szenzoros neuronok farmakológiájának virágzását jelentheti. Nem válik azonban nélkülözhetetlenné a bonyolult, sok nehézséggel járó in vivo preparátumok, valamint az éber állatok használata a fiziológiai jelenségek vizsgálatában és a gyógyszerfejlesztésben, mert a vegyület hatásai a szervezet integratív működésére (farmakodinámias hatás) és a szervezet hatása a vegyületre (farmakokinetikai hatás) csak így vizsgálhatók.

## *A disszertációban szereplő új eredmények összefoglalása*

1. Tengerimalacban a capsaicin, ellentétben más speciesekkel (patkány, nyúl, macska, kutya) nem vált ki Bezold-Jarisch reflexet. A reflexes hipotenzió, bradikardia és apnoe helyett jelzett hipotenziót és tachypnoet hoz létre reflexes úton, melynek kiváltásához 5-10 -szer nagyobb dózisu capsaicinre van szükség, mint a fent említett fajok esetén.

2. Bizonyítottuk, hogy a korábbi irodalmi adatokkal ellentétben, patkány harántcsíkos izmaiban a gerincvelői hátsógyökök ingerlésével antidrómos vazodilatáció hozható létre, melyet capsaicin/RTX-érzékeny szenzoros rostok közvetítenek. E rostok fiziológiai funkciója jelenleg nem ismert, de valószínűsíthető, hogy a vázomzat működése vagy bizonyos pathológias állapotok esetén (pl. shock) e rostok is aktiválódnak és így hozzájárulnak egyéb vazodilatatív folyamatokhoz. Az antidrómos vazodilatáció nemcsak a bőrben, viscerális szerveken, meninx-eken, hanem harántcsíkos izomban is megfigyelhető.

3. A capsaicin az antidrómos vazodilatáción kívül vazokonstriktót is kivált. A hatás létrejöttében szenzoros rostok vesznek részt, de emellett nem neuronális mechanizmusok is megfigyelhetők, mivel krónikus idegdegenerációval a capsaicin vazokonstriktor hatása csak részben gátolható. Az RTX szelektív gátló hatása bizonyítja, hogy a vazokonstrikción valamely VR farmakológiai receptor aktivációja útján jön létre. A kísérletek felvetik annak lehetőségét, hogy a szenzoros idegvégződéseken kívül vaszkuláris capsaicin/RTX-érzékeny receptorok is léteznek.

4. Új noninvazív módszerrel, az fMRI-vel sikerült láthatóvá tenni a nocicepció formalinnal kiváltott aktivációját gerincvelői szinten. A módszer technikai jelentősége, hogy a fájdalomra

létrejövő neuronális keringést-mikrokeringést altatott állatban képes megjeleníteni, ami az MRI érzékenységeinek további növelésével biztonságosabbá tehető. A felbontás további növelése alapját képezi a struktúrák finom megkülönböztetésének a gerinccsatornán belül, így a későbbiekben lehetővé teheti analgetikus anyagok rutin vizsgálatát a gyógyszerkutatókban.

## *Köszönetnyilvánítás*

Szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik segítségükkel hozzájárultak ahhoz, hogy a doktori értekezés alapját szolgáló tudományos felfedezésekre sor kerüljön és így e disszertáció elkészüljön, így Dr. Szolcsányi János professzor úrnak, aki minden nehézség ellenére lehetővé tette számomra, hogy az intézetben dolgozhassak és bevezetett a kísérletezés rejtelmeibe, aki megtanított a kísérleti eredmények kritikus értékelésére és aki a szakmai fejlődésemet fáradhatatlanul segítette és trelgetté; Dr. Urbán Lászlónak (Novartis Institute for Medical Sciences), a fáradhatatlan kutatónak és tudományszervezőnek, aki a külföldi tanulmányutam során lelkesítő szóval és instrukciókkal látott el és akinek ismeretisége nélkül lelkiekben is szegényebb volnék. Nagyon köszönöm a mindenkor precíz segítséget Zöldhegyi Józsefnének, Marának, akire mindig lehet számítani, ugyanígy köszönöm Csillának és Katinak segítségét, amely mindig hozzájárult a kísérletek sikeréhez, valamint külön köszönöm Galambos Györgynek, Gyurinak a mindig önzetlen és hathatós segítségét. Nagyon köszönöm Kati titkárnőnknek, hogy mindig segített az ügyes-bajos dolgok minél simább és gyorsabb elintézésében. Köszönet illeti Dr. Pethő Gábort, akivel igen sokat dolgoztunk együtt és gondolkoztunk egy-egy probléma megoldásán és eközben nagyon sok dologról eszmecesterét folytattunk, ugyanígy köszönet Dr. Pintér Erikának, akivel néhány közös kísérletet végeztünk. Köszönöm volt TDK-saimnak Dr. Kovács Tibornak, Dr. Százados Miklósnak és Dr. Peitl Barnának a kísérletezés közben együtt eltöltött perceket. Köszönet a POTE Farmakológiai és Farmakotherápiás (korábban Gyógyszertani) Intézet összes dolgozójának, hogy kisebb-nagyobb mértékben hozzájárultak a nyugodt munkához.

Végül, de talán elsősorban, köszönöm szüleimnek Prof. Dr. Pórszász Jánosnak és Dr. Gíbiszer Katalinnak, hogy a tudományos kutatás szerelmén túl az emberi nagyság példájával is előttem járnak és ugyan nem beszélhetem meg velük, de mindig elgondolkodom azon, hogy ők a helyemben mit tennének egy-egy adott probléma megoldása érdekében legyen az tudományos vagy az élet más szféráit érintő kérdés. Kritikus szemük bizonyára rengeteg hibát talál e doktori értekezésben.

## *A hivatkozott közlemények jegyzéke*

- Abdel-Salam, O.M., Szolcsányi, J., Pórszász, R. and Mózsik, G.: Effect of capsaicin and resiniferatoxin on gastrointestinal blood flow in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 305:127-36, 1996.
- Ahlgren, S.C., White, D.M. and Levine, J.D.: Increased responsiveness of sensory neurons in the saphenous nerve of the streptozotocin-diabetic rat. *J. Neurophysiol.* 68: 2077-2085, 1992.
- Alderman, D.W. and Grant, D.M.: An efficient decoupler coil design which reduces heating in conductive samples in superconductive spectrometers. *J. Magn. Reson.* 36:447-451, 1979.
- Bennett, G.J. and Xie, Y.K.: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33:87-107, 1988.
- Bevan, S. and Geppetti, P.: Protons: small stimulants of capsaicin-sensitive sensory nerves. *Trends Neurosci.* 17:509-12, 1994.
- Bíró, T., Maurer, M., Modarres, S., Lewin, N.E., Brodie, C., Ács, G., Ács, P., Paus, R. and Blumberg, P.M.: Characterization of functional vanilloid receptors expressed by mast cells. *Blood* 91:1332-1340, 1998.
- Bloch, F., Hanson, W.W. and Packard, M.E.: Nuclear induction. *Phys. Rev.* 70:460-474, 1946.
- Blumberg, P.M., Szállási, Á. and Ács, G.: Resiniferatoxin - an ultrapotent capsaicin analogue. In: Wood, J.N. (ed), *Capsaicin in the Study of Pain*, Academic Press, New York, pp. 45-62. 1993.
- Cameron-Smith, D., Colquhoun, E.Q., Ye, J.M., Hettiarachchi, M. and Clark, M.G.: Capsaicin and dihydrocapsaicin stimulate oxygen consumption in the perfused rat hindlimb. *Int. J. Obes.* 4:259-270, 1990.
- Capsaicin Study Group: Treatment of painful diabetic neuropathy with topical capsaicin. A multicenter, double-blind, vehicle-controlled study. *Arch. Intern. Med.* 151:2225-2229, 1991.
- Caterina, M.J., Schumacher, M.A., Tominaga, M., Rosen, T.A., Levine, J.D. and Julius, D.: The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389:816-824, 1997.
- Celander, O. and Folkow, B.: The nature and the distribution of afferent fibres provided with axon reflex arrangement. *Acta Physiol. Scand.* 29:359-370, 1953.
- Chung, K., Schwen, R.J. and Coggeshall, R.E.: Ureteral axon damage following subcutaneous administration of capsaicin in adult rats. *Neurosci. Lett.* 53:221-6, 1985.
- Coleridge, H.M. and Coleridge, J.C.G.: Reflexes evoked from tracheobronchial tree and lungs. In: *Handbook of Physiology: The respiratory system*, vol. 2 (eds Cherniak, N. and Widdicombe, J.G.), pp. 395-429, American Physiological Society, Washington DC, 1986.
- Coleridge, H.M., Coleridge, J.C.G. and Kidd, C.: Role of the pulmonary arterial baroreceptors in the effects produced by capsaicin. *J. Physiol.* 170:272-285, 1964.
- Colquhoun, E.Q., Eldershaw, T.P.D., Bennett, K.L., Hall, J.L., Dora, K.A. and Clark, M.G.: Functional and metabolic evidence for two different vanilloid (VN1 and VN2) receptors in perfused rat hindlimb. *Life Sci.* 57:91-102, 1995.
- D'Amour, F.E. and Smith, D.L.: A method for determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol.* 72:74-79, 1941.
- DeLeo, J.A. and Coombs, D.W.: Autotomy and decreased spinal substance P following peripheral cryogenic nerve lesion. *Criobiology* 28:460-466, 1991.
- Dickenson, A.H. and Sullivan, A.: Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 30:349-360, 1987.
- Dickenson, A.H. and Sullivan, A.F.: Evidence for a role of the NMDA receptor in the frequency dependent potentiation of deep rat dorsal horn nociceptive neurons following C-fiber stimulation. *Neuropharmacology* 26:1235-1238, 1987.

- Dubuisson, D. and Dennis, S.G.: The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4:161-174, 1977.
- Eldershaw, T.P.D., Colquhoun, E.Q., Bennett, K.L., Dora, K.A. and Clark, M.G. Resiniferatoxin and piperine: Capsaicin-like stimulators of oxygen uptake in the perfused rat hindlimb. *Life Sci.* 55:389-397, :1994.
- Gebhart, G.F. and Ness, T.J.: Central mechanisms of visceral pain. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69:627-634, 1991.
- Gustafson, U., Wardell, K., Nilsson, G.E. and Lewis, D.H.: Vasomotion in rat skeletal muscle induced by hemorrhage as recorded by laser-Doppler flowmetry. *Microvasc. Res.* 42: 224-228, 1991.
- Gyngell, M.L., Bock, C., Schmitz, B., Hoehn-Berlage, M and Hossmann, K.A.: Variation of functional MRI signal in response to frequency of somatosensory stimulation in  $\alpha$ -chloralose anesthetized rats. *Magn. Reson. Med.* 36:13-15, 1996.
- Hergenhahn, M., Adolph, W. és Hecker, E.: Resiniferatoxin and other esters of novel polyfunctional diterpenes from *Euphorbia resinifera* and *unispina*. *Tetrahedron Lett.* 19:1595-1598, 1975.
- Holton, P. and Perry, W.L.M.: On the transmitter responsible for antidromic vasodilatation in the rabbit's ear. *J. Physiol.* 114:240-251, 1951.
- Holzer, P.: Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43:143-201, 1991.
- Högyes, A.: Beiträge zur physiologischen Wirkung der Bestandteile des *Capsicum annum*. *Arch. Exp. Path. Pharmac.* 9:117-130, 1878.
- Hua, X.Y., Chen, P., Hwang, J. and Yaksh, T.L.: Antinociception induced by civamide, an orally active capsaicin analogue. *Pain* 71:313-322, 1997.
- Hunškaar, S., Berge, O.G., Hole, K.: A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behav. Brain Res.* 21:101-108, 1986.
- Hyder, F., Behar, K.L., Martin, M.A., Blamire, A.M. and Shulman, R.G.: Dynamic magnetic resonance imaging of the rat brain during forepaw stimulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 14:649-655, 1994.
- Jain, S.K., Subramanian, S., Julka, D.B. and Guz, A.: Search for evidence of lung chemoreflexes in man: Study of respiratory and circulatory effects of phenyldiguanid and lobeline. *Clinical Science* 42:163-177, 1972.
- Jancsó, G., Király, E. and Jancsó-Gábor, A.: Direct evidence for an axonal site of action of capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg's Archive of Pharmacology* 313:91-94, 1980.
- Jancsó, G., Király, E. and Jancsó-Gábor, A.: Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurones. *Nature* 270:741-743, 1977.
- Jancsó, G., Király, E., Joó, F., Such, G. and Nagy, A.: Selective degeneration by capsaicin of a subpopulation of primary sensory neurons in the adult rat. *Neurosci. Lett.* 59:209-14, 1985.
- Jancsó, N. and Jancsó-Gábor, A.: Desensitization of sensory nerve endings (in Hungarian) *Kísérletes Orvostudomány (Suppl.)* 2:15, 1949.
- Kay, I.S. and Armstrong, D.J.: Phenyldiguanide not phenyldiguanide is used to evoke the pulmonary chemoreflex in anaesthetized rabbits. *Exp. Physiol.* 75:383-389, 1990.
- Kerskens, C.M., Hoehn-Berlage, M., Schmitz, B., Busch, E., Bock, C., Gyngell, M.L. and Hossmann, K.-A.: Ultrafast perfusion-weighted MRI of functional brain activation in rats during forepaw stimulation: comparison with T2-weighted MRI. *NMR Biomed.* 9:20-23, 1996.
- Kitni, S.H. and Chang, J.M.: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 50:355-363, 1992.
- Koster, R., Anderson, M. and deBeer, E.J.: Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18:412, 1959.
- Kress, M., Koltzenburg, M., Reeh, P.W. and Handwerker, H.O.: Responsiveness and functional attributes of electrically localized terminals of cutaneous C-fibers in vivo and in vitro. *J. Neurophysiol.* 68:581-595, 1992.

- Kwong, K.K., Belliveau, J.W., Chesler, D.A., Goldberg, I.E., Weisskoff, R.M., Poncelet, B.P., Kennedy, D.N., Hoppel, B.E., Cohen, M.S., Turner, R., Cheng, H.M., Brady, T.J. and Rosen, B.R.: Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5675-5679, 1992.
- Lille, J. de, Ramirez, E.: *Ann. Inst. Biol.* 6: 23, 1935; *cit. Ber. Ges. Physiol.* 89:667, 1936.
- Liu, L. and Simon, S.A.: A rapid capsaicin-activated current in rat trigeminal ganglion neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:738-741, 1994.
- Maggi, C.A., Patacchini, R., Tramontana, M., Amann, R., Giuliani, S. and Santicioli, P.: Similarities and differences in the action of resiniferatoxin and capsaicin on central and peripheral endings of primary sensory neurons. *Neurosci.* 37:531-539, 1990.
- McMahon, S.B., Sykova, E., Wall, P.D., Woolf, C.J., and Gibson, S. J.: Neurogenic extravasation and substance P levels are low in muscle as compared to skin in the rat hindlimb. *Neurosci. Lett.* 52:235-240, 1984.
- Mense, S.: Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. *Pain* 54:241-289, 1993.
- Nagy, J.I., Iversen, L.L., Goedert, M., Chapman, D. and Hunt, S.P.: Dose-dependent effects of capsaicin on primary sensory neurons in the neonatal rat. *J. Neurosci.* 3:399-406, 1983.
- Nelson, K.: The constitution of capsaicin - the pungent principle of capsicum I. *J. Am. Chem. Soc.* 41:1115-1119, 1919.
- Nelson, K.: The constitution of capsaicin - the pungent principle of capsicum II. *J. Am. Chem. Soc.* 42:597-601, 1920.
- O'Brien, C., Woolf, C. J., Fitzgerald, M., Lindsay, R. M. and Molander, C.: Differences in the chemical expression of rat primary afferent neurones which innervate skin, muscle or joint. *Neurosci.* 32:493-502, 1989.
- Ogawa, S., Tank, D.W., Menon, R., Ellermann, J.M., Kim, S.G., Merkle, H. and Ugurbil, K.: Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5951-5955, 1992.
- Ogawa, S., Lee, T.M., Kay, A.R. and Tank, D.W.: Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87:9868-9872, 1990.
- Öhlén, A., Lindbom, L., Staines, W., Hökfelt, T., Cuervo, A. C., Fischer, J.A. and Hedquist, P.: Substance P and calcitonin gene-related peptide: immunohistochemical localization and microvascular effects in rabbit skeletal muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 336:87-93, 1987.
- Paintal, A.S.: Mechanism of stimulation of type pulmonary receptors. *J. Physiol.* 203:511-532, 1969.
- Paintal, A.S.: The influence of certain chemical substances on the initiation of sensory discharges in pulmonary and gastric stretch receptors and atrial receptors. *J. Physiol.* 135:486-510, 1957.
- Paintal, A.S.: Vagal sensory receptors and their reflex effects. *Physiol. Rev.* 53:159-227, 1973.
- Peitl, B., Pethő, G., Pórszász, R. and Szolcsányi, J.: Capsaicin-insensitive sensory-efferent meningeal vasodilatation evoked by electrical stimulation of trigeminal nerve fibres in the rat. *Br. J. Pharmacol.* (in press)
- Pethő, G., Pórszász, R., Peitl, B. and Szolcsányi, J.: Spike generation from dorsal roots and cutaneous afferents by hypoxia or hypercapnia in the rat in vivo. *Exp. Physiol.* 84:1-15, 1999.
- Pintér, E. and Szolcsányi, J.: Plasma extravasation in the skin and pelvic organs evoked by antidromic stimulation of lumbosacral dorsal roots of the rat. *Neurosci.* 68:603-614, 1995.
- Pintér, E., Helyes, Z., Pethő, G. and Szolcsányi, J.: Noradrenergic and peptidergic sympathetic regulation of cutaneous microcirculation in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 325: 57-64, 1997.
- Pórszász, J., György, L. and Pórszász-Gibisz, K.: Cardiovascular and respiratory effects of capsaicine. *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* 8:61-76, 1955

- Pórszász, J., Such, Gy. and Pórszász-Gibiszter, K.: Circulatory and respiratory chemoreflexes I. Analysis of the site of action and receptor types of capsaicine. *Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung.* 12:189-205, 1957
- Pórszász, R., and Szolesányi, J.: Antidromic vasodilatation in the striated muscle and its sensitivity to resiniferatoxin in rat. *Neurosci. Lett.* 182:267-270, 1994.
- Pórszász, R., and Szolesányi, J.: Circulatory and respiratory effects of capsaicin and resiniferatoxin on guinea pigs. *Acta Biochim. Biophys. Hung.* 26:131-138, 1992.
- Pórszász, R., Beckmann, N., Bruttel, K., Urban, L. and Rudin, M.: Signal changes in the spinal cord of the rat after injection of formalin into the hindpaw: Characterization using Functional Magnetic Resonance Imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:5034-5039, 1997.
- Purcell, E.M., Torrey, H.C. and Pound, R.V.: Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys. Rev.* 69:37-83, 1946.
- Randall, L.O. and Selitto, J.J.: A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 111:409-418, 1957.
- Reichling, D.B. and Levine, J.D.: Heat transduction in rat sensory neurons by calcium-dependent activation of a cation channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:7006-7011, 1997.
- Rudin, M., Beckmann, N., Pórszász, R. Reese, T., Bochelen, D. and Sauter, A.: In vivo magnetic resonance methods in pharmaceutical research: Current status and perspectives. *NMR in Biomed.* 12:69-97, 1999.
- Sakaguchi, M., Inaishi, Y., Kashihara, Y. and Kuno, M.: release of calcitonin gene-related peptide from nerve terminals in rat skeletal muscle. *J. Physiol.*, 434:257-270, 1991.
- Sakurada, T., Katsumata, K., Tan-No, K., Sakurada, S. and Kisara, K.: The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonists in the spinal cord. *Neuropharmacology* 31:1279-85, 1992.
- Santicioli, P., De Bianco, E., Figini, M., Bevan, S. and Maggi, C.A.: Effect of capsazepine on the release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity (CGRP-LI) induced by low pH, capsaicin and potassium in the rat soleus muscle. *Br. J. Pharmacol.* 110:609-612, 1993.
- Santos, A.R. and Calixto, J.B.: Ruthenium red and capsazepine antinociceptive effect in formalin and capsaicin models of pain in mice. *Neurosci. Lett.* 235:73-77, 1997.
- Schaible, H.G., Jarrott, B., Hope, P.J. and Duggan, A.W.: Release of immunoreactive substance P in the spinal cord during development of acute arthritis in the knee joint of the cat: a study with antibody microprobes. *Brain Res.* 529:214-223, 1990.
- Seltzer, Z., Dubner, R. and Shir, Y.: A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 43:205-218, 1990.
- Stacey, M.J.: Free nerve endings in skeletal muscle of the cat. *J. Anat.* 105:231-254, 1969.
- Szállási, Á. and Blumberg, P.M.: Resiniferatoxin and its analogs provide novel insights into the pharmacology of the vanilloid (capsaicin) receptor. *Life Sci.* 47:1399-1408, 1990.
- Szállási, Á. and Blumberg, P.M.: Resiniferatoxin, a phorbol-related diterpene, acts as an ultrapotent analog of capsaicin, the irritant constituent in red pepper. *Neurosci.* 30:515-520, 1989.
- Szállási, Á. and Blumberg, P.M.: Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharm. Rev.* 1999 (in press).
- Szállási, Á. and Goso, C.: Characterization by [<sup>3</sup>H]resiniferatoxin binding of a human vanilloid (capsaicin) receptor in post-mortem spinal cord. *Neurosci. Lett.* 165:101-104, 1994.
- Szállási, Á., Joó, F. and Blumberg, P.M.: Duration of desensitization and ultrastructural changes in dorsal root ganglia in rats treated with resiniferatoxin, an ultrapotent capsaicin analog. *Brain Res.* 503:68-72, 1989.
- Szállási, Á.: Autoradiographic visualization and pharmacological characterization of vanilloid (capsaicin) receptors in several species, including man. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 629:1-68, 1995.
- Szolcsányi, J. and Jancsó-Gábor, A.: Sensory effects of capsaicin congeners. I. Relationship between chemical structure and pain-producing potency. *Drug Res.* 25:1877-1881, 1975.



- Szolcsányi, J. and Jancsó-Gábor, A.: Sensory effects of capsaicin congeners. II. Importance of chemical structure and pungency in desensitising activity of capsaicin-type compounds. *Drug Res.* 26:33-37, 1976.
- Szolcsányi, J., Szállási, A., Szállási, Z., Joó, F. and Blumberg, P.M.: Resiniferatoxin: an ultrapotent selective modulator of capsaicin-sensitive primary afferent neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255:923-928, 1990.
- Szolcsányi, J., Anton, F., Reeh, P.W. and Handwerker, H.O.: Selective excitation by capsaicin of mechano-heat sensitive nociceptors in rat skin. *Brain Res.* 446:262-8, 1988.
- Szolcsányi, J., Barthó, L. and Pethő, G.: Capsaicin-sensitive bronchopulmonary receptors with dual sensory-efferent function: mode of action of capsaicin antagonists. *Acta Physiol. Hung.* 77:293-304, 1991.
- Szolcsányi, J., Helyes, Z., Oroszi, G., Németh, J. and Pintér, E.: Release of somatostatin and its role in the mediation of the anti-inflammatory effect induced by antidromic stimulation of sensory fibres of rat sciatic nerve. *Br. J. Pharmacol.* 123:936-42, 1998.
- Szolcsányi, J., Sann, H. and Pierau, Fr.-K.: Nociception in pigeons is not impaired by capsaicin. *Pain* 27:247-260, 1986.
- Szolcsányi, J.: A pharmacological approach to elucidation of the role of different nerve fibres and receptor endings in mediation of pain. *J. Physiol. (Paris)* 73:251-259, 1977.
- Szolcsányi, J.: Antidromic vasodilatation and neurogenic inflammation, *Agents Actions*, 23: 4-11, 1988.
- Szolcsányi, J.: Capsaicin-sensitive chemoceptive neural system with dual sensory-efferent function. In: *Antidromic Vasodilatation and Neurogenic Inflammation* L.A. Chahl, J. Szolcsányi, F. Lembeck (eds) Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 27-55, 1984.
- Szolcsányi, J.: Capsaicin-sensitive chemoceptive neural system with dual sensory-efferent function. In: *Antidromic vasodilatation and neurogenic inflammation.* (eds. Chahl, L.A. Szolcsányi, J. and Lembeck, F.), pp. 27-55, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1984.
- Thresh, L.T.: Isolation of capsaicin. *Pharm. J. and Transact.* 6:941-949, 1876.
- Tjolsen, A., Rosland, J.H., Berge, O.G. and Hole, K.: The increasing temperature hot plate test: an improved test of nociception in mice and rats. *J. Pharmacol. Methods* 25:241-250, 1991.
- Toda, N., Usui, H., Nishino, N. and Fujiwara, M.: Cardiovascular effects of capsaicin in dogs and rabbits. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 181:512-521, 1972.
- Toh, C.C., Lee, T.S. and Kiang, A.K.: The pharmacological actions of capsaicin and analogues. *Br. J. Pharmacol.* 10:175-182, 1955.
- Tominaga, M., Caterina, M.J., Malmberg, A.B., Rosen, T.A., Gilbert, H., Skinner, K., Raumann, B.E., Basbaum, A.I. and Julius, D.: The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron* 21:531-543, 1998.
- Uchida, S., Yamamoto, H., Iio, S., Matsumoto, N., Wang, X.B., Yonehara, N., Imai, Y., Inoki, R. and Yoshida, H.: Release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive substance from neuromuscular junction by nerve excitation and its action on striated muscle. *J. Neurochem.* 54: 1000-1003, 1990.
- Virus, R.M. and Gebhart, G.F.: Pharmacologic action of capsaicin: apparent involvement of substance P and serotonin. *Life Sci.* 25:1273-1284, 1979.
- Wall, P.D., Devor, M., Inbal, R., Scadding, J.W., Schonfeld, D., Seltzer, Z. and Tomkiewicz, M.M.: Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anesthesia dolorosa. *Pain* 7:103-113, 1979.
- Webb-Peploe, M.M., Brender, D. and Shepherd, J.T.: Vascular responses to stimulation of receptors in muscle by capsaicin. *Am. J. Physiol.* 222:189-195, 1972.
- Woolfe, G. and MacDonald, A.D.: The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demeterol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 80:300-307, 1944.
- Xu, X.J., Hao, J.X., Aldskogius, H., Seiger, A. and Wiesenfeld-Hallin, Z.: Chronic pain related syndrome in rats after ischaemic spinal cord lesion: a possible animal model for pain in patients with spinal cord injury. *Pain* 48:279-290, 1992.

*A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények*

- 1./ Pórszász, R., Pethő, G., Szolcsányi, J.: Studies on the effects of resiniferatoxin, a novel pharmacological tool for investigation of capsaicin-sensitive primary afferents. (Abstr.) *Neuropeptides* 22(1), 54, 1992.
- 2./ Pórszász, R., Szolcsányi, J.: Circulatory and respiratory effects of capsaicin and resiniferatoxin on guinea pigs. *Acta Biochim. Biophys. Hung.* 26, 131-138, 1992.
- 3./ Szolcsányi, J., Pórszász, R., Pethő, G.: Capsaicin and pharmacology of nociceptors in Peripheral Neurons in Nociception. Physio-pharmacological aspects. J.M. Besson, G. Guilbaud, H. Ollat (eds.) John Libbey Eurotext, 1994 pp. 109-124.
- 4./ Pórszász, R., Szolcsányi, J.: Antidromic vasodilatation in striated muscles. (Abstr.) 58<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary, July 4-7, 1993.
- 5./ Pórszász, R., Szolcsányi, J.: Antidromic vasodilatation in the striated muscle and its sensitivity to resiniferatoxin in rat. *Neurosci. Lett.* 182, 267-270, 1994.
- 6./ Pórszász, R., Százados, M., Wilhelm, M., Szolcsányi, J.: The role of capsaicin/RTX sensitive neurones in the regulation of microcirculation of skin and striated muscle. (Abstr.) Annual Meeting of the Austrian Neuroscience Association. Graz, September 22-23, 1995.
- 7./ Pórszász, R., Százados, M., Peitl, B. and Szolcsányi, J.: Neural and non-neural vasoconstriction induced by Capsaicin in the rat hindlimb blood perfused preparation in vivo. Naunyn-Schmiedeberg's Archive of Pharmacology (submitted)

8./ Pórszász, R., Beckmann, N., Bruttel, K., Urban, L. & Rudin, M.: Signal changes in the spinal cord of the rat after injection of formalin into the hindpaw: Characterization using Functional Magnetic Resonance Imaging.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 5034-5039, 1997.

9./ Pórszász, R., Rudin, M., Beckmann, N., Bruttel, K. & Urban, L.: Functional Magnetic Resonance Imaging of spinal cord activation induced by subcutaneously administered formalin: Sensitivity to Lidocaine. (Abstr.)

5<sup>th</sup> Congress of International Society for Magnetic Resonance In Medicine. Vancouver, Canada, April 13-18. 1997.

10./ Rudin, M., Beckmann, N., Pórszász, R. Reese, T., Bochenen, D. & Sauter, A.: In vivo magnetic resonance methods in pharmaceutical research: Current status and perspectives. NMR in Biomed. 12, 69-97, 1999.

## *Egyéb publikációk jegyzéke*

### I. Könyvfejezetek

1./ Szolcsányi, J., Pintér, E., Pethő, G., Helyes, Zs. & Pórszász, R.: Pain and modulation of inflammation by afferent fibers. Proceedings of International Symposium on the Pain Sensory System: Current trends in pain research, pp. 30-36, 1996.

### II. Közlemények

1./ Abdel Salam, O.M.E., Szolcsányi, J., Pórszász, R. & Mózsik, Gy.: Effect of capsaicin and resiniferatoxin on gastrointestinal blood flow in rats. Eur. J. Pharmacol. 305, 127-136, 1996.

2./ Pethő, G., Pórszász, R., Peitl, B. & Szolcsányi, J.: Spike generation from dorsal roots and cutaneous afferents by hypoxia or hypercapnia in the rat in vivo. Exp. Physiol. 84, 1-15, 1999.

3./ Peitl, B., Pethő, G., Pórszász, R. & Szolcsányi, J.: Capsaicin-insensitive sensory-efferent meningeal vasodilatation evoked by electrical stimulation of trigeminal nerve fibres in the rat. Br. J. Pharmacol. (in press)

### III. Előadások és posztterek

1./ Pintér E., Pórszász R., Szolcsányi J.: An antiinflammatory effect evoked by antidromic stimulation of sensory nerve endings (Hung.). Session of Neuroscience Association (Hungarian Physiological Society), Pécs, Hungary, January 19, 1989

2./ Dávid M., Losonczy H., Pórszász R.: Cardiotoxicity observed after anthracyclin treatment of patients with non Hodgkin lymphomas (Hung.). 37<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Internal Medicine Society, Esztergom, Hungary 1990.

3./ Pórszász R., Szolcsányi J.: Respiratory and circulatory effects of resiniferatoxin (RTX) and capsaicin (Hung.). Session of Neuroscience Association (Hungarian Physiological Society), Visegrád, Hungary, January 23-25, 1992

4./ Pintér E., Szolcsányi J., Pórszász R.: Effects of adrenergic blocking agents on microcirculation of the skin (Hung.). 57<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Pécs, Hungary, July 1-4, 1992

5./ Balás I., Búki A., Pórszász R., Dóczi T.: Investigation of cerebral blood flow regulation by laser Doppler flowmetry (Hung.).

National Academy of Sciences (Neurobiological Workshop), Pécs, Hungary, December 4, 1992

- 6./ Barzó P., Dóczy T., Jancsó G., Balás I., Büki A., Pórszász R., Horváth Z.: Neurogenic regulation of cerebral blood flow (Hung.). National Academy of Sciences (Neurobiological Workshop), Pécs, Hungary, March 10, 1993
- 7./ Pórszász R., Pethő G., Wilhelm M., Százados M., Szolcsányi J.: In vivo investigation of capsaicin/RTX sensitive afferents (Hung.). 1<sup>st</sup> Congress of the Hungarian Neuroscience Association, Pécs, Hungary, January 27-29, 1994
- 8./ Pórszász R., Wilhelm M., Szolcsányi J.: Analysis of the local regulation of circulation in the rat by hindlimb perfusion (Hung.). 59<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Budapest, Hungary, July 10-13, 1994
- 9./ Rozsos I., Kollár L., Pórszász R., Vereckei A., Gömöri É., Pataki N., Horváth Ö.P.: Perioperative investigation of microcirculation. Annual Meeting of the Hungarian Angiological Society, Pécs, June 1-3, 1995
- 10./ Pórszász R., Százados M., Wilhelm M., Szolcsányi J.: The role of capsaicin/RTX sensitive neurones in the regulation of microcirculation in the skin and in the muscle (Hung.). 60<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Budapest, Hungary, July 6-8, 1995
- 11./ Pethő G., Pórszász R., Szolcsányi J.: Analysis of the activation of primer afferent neurones by asphyxia (Hung.). 60<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Budapest, Hungary, July 6-8, 1995
- 12./ Pórszász, R., Pethő, G., Szolcsányi, J.: Studies on the effects of resiniferatoxin, a novel pharmacological tool for investigation of capsaicin-sensitive primary afferents. Neuropeptides in normal and pathological function. Second Meeting of the European Neuropeptide Club, Pisa, Italy, May 14-16, 1992.
- 13./ Pórszász, R., Szolcsányi, J.: Antidromic vasodilatation in striated muscles. 58<sup>th</sup> Annual Congress of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary, July 4-7, 1993.
- 14./ Pethő, G., Pórszász, R., Szolcsányi, J.: In vivo activation of peripheral and central terminals of primary afferent neurons by hypercapnia and/or hypoxia. Annual Meeting of the Austrian Neuroscience Association. Graz, September 22-23, 1995.
- 15./ Pórszász, R., Rudin, M., Beckmann, N., Bruttel, K. & Urban, L.: Visualization of spinal cord activation induced by subcutaneously administered formalin: A functional Magnetic Resonance Imaging study. 2<sup>nd</sup> Congress of the European Federation of IASP Chapters. Barcelona, Spain, September 23-27, 1997.

- 16./ Peitl, B., Pethő, G., Pórszász, R. and Szolcsányi, J.: Effect of electrical stimulation of trigeminal nerve fibres on microcirculation of the rat dura mater. Marburg, European Neuropeptide Club 1997.
- 17./ Peitl, B., Pethő, G., Pórszász, R. and Szolcsányi, J.: A nervus trigeminus elektromos ingerlésének hatása a dura mater mikrocirkulációjára. MÉT LXII. Vándorgyűlés 1997.
- 18./ Beckmann, N., Schraa, E.O., Pórszász, R., Bruttel, K. and Schuurman, H.-J.:  $\gamma$ -Lactone in Chronic Rejection of Renal Allografts as Investigated in the Rat *in Vivo* by Magnetic Resonance Imaging.  
6<sup>th</sup> Congress of International Society for Magnetic Resonance In Medicine. Sidney, Australia, April 18-24. 1998.
- 19./ Peitl, B., Pethő, G., Pórszász, R. and Szolcsányi, J.: Capsaicinre érzéketlen trigeminus afferensek ingerlésével kiváltott vazodilatáció patkány dura materén.  
MITT V. Konferencia, Debrecen 1998.
- 20./ Peitl, B., Pórszász, R. and Szolcsányi, J.: The effect of 7-nitro-indazole and Nw-nitro-L-arginine on vasodilatation of the dura mater of the rat.  
MITT VI. Konferencia, Harkány 1999.