

Válaszok Dr. Gyires Klára professzor asszony bírálatára

Tisztelt Professzor Asszony,

Nagyon köszönöm az Akadémiai Doktori Értekezésem alapos és konstruktív bírálatát. Köszönöm a munkámat és az Értekezést méltató megjegyzéseit. Külön megtiszteltetés számomra, hogy a kapszicinnel - kapszaicin receptorral kapcsolatos magyar fájdalomkutatók munkájának folytatását látja munkámban. Valóban érdekes tény, hogy a kapszicinnel kapcsolatba kerülő kutatók jelentős százaléka magyar vagy magyar gyökerekkel rendelkezik. Ebben nyilván jelentős szerepe van Jancsó Miklós iskolateremtő munkájának.

Hosszú ideje elsősorban külföldön dolgozó kutatóként valóban nagy kihívás volt, az ékezetek és kettőspontok alkalmazása mellett, a kutatómunkánk során használt angol neveknek, kifejezéseknek a magyar megfelelőjét megtalálni. Nagyszámú PhD értekezést kellett megkeresnem, bízva abban, hogy azokban megtalálom a helyes neveket, kifejezéseket. Örülök, hogy talán többé mint kevésbé sikerült az Értekezést magyarul megírni.

Elnézését kérem, a nyomtatási hibákért, ami miatt a két ábra nem volt látható. Megpróbáltam valamennyi példány összes oldalát átnézni a kötés előtt és újranyomtatni a hibás oldalakat. Ez nyilvánvalóan nem sikerült teljes mértékben.

Elnézését kérem a hiányzó rövidítés lista miatt is. Ez valóban hasznos lett volna.

Az Értekezés szerkezete és az Anyagok és Módszerek fejezet valóban nem teljesen konvencionális. A szerkezetet illetően, próbáltam az eredményekre koncentrálni az értekezést írni, ezért az Anyagok és Módszerek fejezetet a Megbeszélés után írtam és szerkesztettem. Az Anyagok és Módszerek fejezet írásának elkezdésékor azonban úgy ítéltem meg, hogy azok részletes leírása majdnem megduplázná az Értekezés oldalszámát. Az Értekezésben bemutatott valamennyi adat bíralt folyóiratban közölt. Így összességében úgy gondoltam, hogy egy rövid leírás a hivatkozások megadásával elegendő lesz. Elnézését kérem, ha ez nehézséget okozott az Értekezés értékelésében.

A kérdéseire, tartalmi megjegyzéseire a következőket tudom válaszolni:

1. Az anandamid parciális agonista a CB1 receptoron. Van-e jelentősége az anandamid primer szenzoros idegeken kifejtett hatásában, hogy nem teljes (full) agonista, hanem parciális? A TRPV1 receptoron parciális vagy teljes agonistaként viselkedik?

A kérdés második felének megválaszolásával kezdeném:

Az anandamid TRPV1-t aktiváló hatását Peter Zygmunt és munkatársai mutatták ki 1999-ben. Ugyan ők nem vizsgálták, hogy az anandamid teljes vagy részleges agonista-e, de eredményeik azt sejtették, hogy bár az anandamid hatáserevége szignifikánsan alacsonyabb, mint a kapszaiciné, az anandamid valószínűleg a TRPV1 teljes, vagy közel teljes agonistája.

A kérdést, egy évvel később Smart és munkatársai vizsgálták specifikusan. A hátsó gyöki érzősejteken az 1-100 μ M anandamiddal kiváltott áramok amplitúdója csak ~10-50%-a volt az 1 μ M kapszicinnel kiváltott áramoknak. Azonban a human TRPV1-t kifejező HEK sejteken a Ca²⁺ mérés során az anandamid és a kapszaicin hatáserevége között, a hatáserevégeben mutatkozó jelentős különbség mellett, nem

volt különbség. Tehát, úgy tűnik, hogy "tisztá" rendszer esetén az anandamid teljes agonistája a TRPV1-nek.

Azonban, a TRPV1 válaszát egy sor tényező (pl. hőmérséklet, pH, a különböző jelző rendszerek aktivációs állapota) befolyásolja és a különböző agonistákkal kiváltott válaszok különböző módon viselkednek. Például, a pH csökkentése a kapszaicin hatáserősségét jelentősen megemeli, míg az anandamid hatáserősségére nincs ilyen hatással.

A native rendszerekben természetesen az anandamid jelentős promiszkuitása is befolyásolja, hogy az anandamid koncentráció-válasz összefüggése hogyan viszonyul a kapszaicin koncentráció-válasz összefüggéséhez.

A CB1 receptoron ugyan az anandamid parciális agonista, azonban a hatáserősség magasabb a CB1 receptoron, mint a TRPV1-en. Így, "fiziológiás" körülmények között, a parciális agonista hatás mellett, alacsony koncentrációnál a CB1 receptor válasza lesz domináns. A TRPV1 szenzitizációja után azonban, a hatáserősségbeli különbségek mérséklődnek, és a TRPV1 teljes agonista hatása kerül előtérbe. Ehhez természetesen hozzájárulnak a CB1 receptor aktiválásában létrejövő változások is. Tehát az első kérdésére a válaszom, hogy igen, az elsődleges érző idegsejteken kifejtett hatást illetően van jelentősége annak, hogy az anandamid a CB1 receptor nem teljes agonistája.

Azonban, a TRPV1-CB1 receptor-anandamid és a hozzájuk kapcsolódó molekulákból felépülő rendszer egy nagyon dinamikusan változó rendszer, amelyben a TRPV1 ingerösszegző (stimulus integrator) szerepet játszik, míg a CB1 receptor különböző G fehérjéken keresztül indíthatja el az intracelluláris jelzőrendszereket. Így az agonisták, köztük az anandamid farmakológiai jellemzői a célmolekulák poszt-transzlációs módosulásaitól, fizikai környezetétől (pl. hőmérséklet) és más agonisták jelenlététől függ.

2. Az anandamid metabolizmusban a FAAH mellett, a COX2 enzim is részt vesz. Kifejeződik-e COX-2 az elsődleges érző neuronokban és a COX-2 által képződött metabolitok, a prostaglandin ethanolamidok játszanak-e szerepet az anandamid-okozta hatásban a primer szenzoros neuronokon? Továbbá kérdés, hogy a FAAH gátlás következtében megnőtt mennyiségű anandamidból a COX2-hatására feltehetőleg ugyancsak nagyobb mennyiségben képződő prostaglandin ethanolamidok hogyan befolyásolják a fájdalomérzést?

Igen, a COX2 enzim kifejeződését a fájdalomérző elsődleges érző neuronokban több csoport leírta. Egyik legfrissebb közleményünkben (Li és munkatársai, 2021, Scientific Reports) megerősítjük ezt a kifejeződést, és bemutatjuk, a COX2 kifejeződés megemelkedésének az egyik hatását. Bemutatjuk többek között, hogy a TRPV1-t kifejező elsődleges érző idegsejtek egy jelentős hányada a COX2-t is kifejezi. A sejtek kapszaicinnal történő aktiválása ennek a COX2 kifejeződésnek a jelentős növekedéséhez vezet. A COX2 kifejeződésének növekedése együtt jár egy sor COX által szintetizált molekula koncentrációjának a növekedésével, illetve a kapszaicinre válaszoló sejtek következő kapszaicin adagolással kiváltott válaszaik jelentős megemelkedésével. Ez a szenzitizáció, COX illetve COX2 gátlóval szinte teljesen gátolható.

A TRPV1 aktiválása az intracelluláris Ca^{2+} szint növekedésével jár. Ez a növekedés a sejtekben az anandamid szintézisében résztvevő Ca^{2+} -érzékeny enzimek aktiválását, tehát az intracelluláris anandamid koncentráció növekedését okozza.

Ahogy az Értekezésben is bemutattam, a TRPV1-t kifejező elsődleges érző idegsejtek egy jelentős hányada, az anandamid szintézisében résztvevő Ca^{2+} érzékeny enzimek mellett a FAAH-t is kifejezi.

A kifejeződések eloszlásának összegzése arra utal, hogy a TRPV1-t kifejező elsődleges érző idegsejtek egy jelentős csoportjában a TRPV1 aktiválása után keletkező anandamid átalakításában a COX2 is részt vehet. Ez különösen jelentős lehet, a FAAH gátlása alatt. Az így keletkező prostamidok természetesen hozzájárulhatnak a sejtek aktivitásának modulálásához.

Legjobb tudomásom szerint a válaszom megírásának idejéig nem jelent meg olyan közlemény, ami az elsődleges érző idegsejtekben vizsgálta volna a prostamidok keletkezését illetve hatását. Gatta és munkatársai 2012-ben közzölt adatai alapján azonban úgy tűnik, hogy a prostamidok közül a $\text{PMF}\alpha_2$ a gerincvelői hátsó szarvi idegsejtekben excitációt okoz egy feltételezett $\text{PMF}\alpha_2$ receptoron keresztül.

A FAAH gátlók klinikai vizsgálatának kudarcában feltehetően sok tényező játszott szerepet. Ezek egyike lehet a felgyülemelő anandamid COX2 (vagy COX1, amint Gatta és munkatársai eredményei mutatják) által történő prostamiddá alakulása és annak excitációs hatása akár az elsődleges érző idegsejteken, akár a gerincvelői hátsó szarvi excitatórikus sejteken. Természetesen, más tényezők, mint a patológiás viszonyok között létrejövő, a fentebb említett, hatáserőségek megváltozása, illetve a CB1 receptor aktiválása után aktiválódó jelzőrendszer hatása (pl. gátló hatás helyett excitációs hatása: Carey és munkatársai, 2016, Mol Pain 12: 1-23, Nerandzic és munkatársai, 2018, Brit J Pharmacol 175: 2322-2336) is közrejátszhatott a vizsgálatok kudarcában. A rendelkezésre álló adatok alapján úgy tűnik, hogy az endokannabinoidom-on belül egy molekula gátlása vagy aktiválása nem fog elvezetni a rendszerben rejlő fájdalomcsillapítás eléréséhez. Ehhez a célhoz, talán az endokannabinoidom-on belüli patológiás viszonyok közötti felborult egyensúly helyreállítása vezethet el.

3. Másrészt a FAAH hatására az anandamidból arachidonsav képződik, mely szubsztrátja a COX-1-nek és COX-2-nek és a lipo-oxygenáz enzimnek is, melyek végtermékei gyulladással mediátorok. Játsszhat-e ez a mechanizmus szerepet az anandamid TRPV1 aktivációt befolyásoló hatásában?

Ez a kérdés is egy, a patológiás körülmények között bekövetkező és az endokannabinoidom-on belül lejátszódó változásoknak egy nagyon fontos aspektusát célozza meg. A fentebb említett munkánk (Li és munkatársai, 2020) részlegesen megválaszolja a kérdést. Amint már fentebb említettem, a TRPV1 aktiválás hatására a COX2 kifejeződése jelentősen megnő. A TRPV1 aktivitás (Ca^{2+} beáramlás) megnöveli az anandamid szintézis szintjét is. UPLC-MS méréseket végeztünk a TRPV1 kapszaicinnal történő aktiválása után 30 perccel. A mérés során 48 gyulladással lipid koncentrációját határoztuk meg. A statisztikailag jelentősen megnövekedett 32 molekula körülbelül fele LOX míg harmada COX által szintetizált molekula. Ugyan ezeket a kapszaicinnal kiváltott változásokat csak akkor méri a rendszerünk, ha a 30 perces inkubációs időben a sejteket $10\mu\text{M}$ arachidonsavban inkubáljuk, de úgy véljük, hogy ennek oka a rendszerben lévő alacsony arachidonsav, és ennek következményeként a LOX és COX által szintetizált molekulák alacsony (mérési küszöb érték alatti) koncentrációja.

A munkánk során talált COX és LOX által szintetizált molekulák egy jelentős részéről tudjuk, hogy a TRPV1 szenzitizátorai. Így, például a kapszaicin aktiválás után megemelkedett 15d-PGJ2, 5(S)-HETE, 12(S)-HETE, 15(S)-HETE és a LTB4 is képes a TRPV1 aktiválására.

4. A másik fontos endocannabinoid, a 2-arachidonoylglycerol (2-AG), a CB1 és CB2 receptorok teljes agonistája. Belőle a COX-2 hatására prostaglandin glycerol észterek képződnek. Van-e szerepe a primer szenzoros neuronokban a fájdalomérzésben a 2-AG-nek ill. metabolitjának?

Ez egy nagyon izgalmas kérdés, aminek kapcsán azt hiszem, sokkal több kérdést lehet megfogalmazni, mint amennyi választ adni a jelenleg rendelkezésre álló adatok alapján. A 2-AG szerepét tisztázandó kutatási program talán egy másik Akadémiai Doktori Értekezés témája is lehetne.

Több csoport eredménye támasztja alá, hogy a hátsó gyöki dúcban az anandamid mellett a 2-AG is szintetizálódik, illetve a 2-AG szint patológiás körülmények között a hátsó gyöki dúcban megnövekszik (pl. Huang és munkatársai, 1999, Mitirattanakul és munkatársai, 2006, Zygmunt és munkatársai, 2013). Ugyan Vellani és munkatársai (2008) eredményei azt mutatják, hogy a kultúrmédiumban növesztett elsődleges érző idegsejtek is termelnek 2-AG-t, Nyilas és munkatársai (2009) adatai szerint a 2-AG-t szintetizáló DGL α az elsődleges érző idegsejtek terminálisaihoz viszonyítva posztszinaptikus helyzetűek. Így, feltehető, hogy a sejtek kultúrmédiumban történő növesztése indukálja a DGL α kifejeződését az elsődleges érző idegsejtekben. A 2-AG-t szintetizáló sejtek típusa(i) mellett annak szerepe sem teljesen tisztázott a hátsó gyöki dúcban, illetve az elsődleges érző idegsejtekben.

A hátsó gyöki dúc mellett, a 2-AG-t a gerincvelő hátsó szarvi neuronjai illetve a mikroglia sejtek is termelik (pl. Huang és munkatársai, 1999, Petrosino és munkatársai, 2007). Amint említettem, a DGL α kifejeződik a gerincvelő hátsó szarvi idegsejtek egy részében (Nyilas és munkatársai 2009). A 2-AG ezekben a sejtekben glutamát hatására az mGluR5 receptor közvetítésével szintetizálódik, ami azután retrográd módon gátolja az elsődleges érző idegsejtek végződéseiből a transzmitter felszabadulást, és így antinociceptív hatást vált ki (Woodhams és munkatársai, 2012, Khasabova és munkatársai, 2014). Thomas és munkatársai (2020) friss eredményei megerősítik, hogy a 2-AG antinociceptív hatása a gerincvelőben, legalább is nagyrészt, az elsődleges érző idegsejtek CB1 receptorán keresztül jön létre. Thomas és munkatársai (2020) eredményei azt is mutatják, hogy a 2-AG a fájdalomérző elsődleges idegsejtek perifériás nyúlványán is gátló hatást vált ki.

Zygmunt és munkatársai (2013) azonban kimutatták, hogy a 2-AG, a kannabinoid receptor agonista hatása mellett, a TRPV1-t is aktiválja. Azonban, az anandamiddal ellentétben (saját, csak részben publikált adat), a 2-AG gyorsan deszenzitizálja a TRPV1-t, és ezt a deszenzitizálást a palmitoiletanolamid (PEA) fokozza (Zygmunt és munkatársai 2013), ami arra utal, hogy a hátsó szarvi idegsejtekben szintetizálódó 2-AG-hoz hasonlóan, a hátsó gyöki dúcban termelődő 2-AG-nak is inkább gátló, mint excitációs hatása lehet.

Potenciálisan nagyon fontos adat, hogy PEA hatására különböző sejtek 2-AG-t szintetizálnak (Petrosina és munkatársai, 2016), azonban jelenleg nem ismert, hogy ez a PEA hatás létezik-e elsődleges érző idegsejtekben.

Ugyan a 2-AG mennyiségét nem mértük azokban a munkáinkban, amelyek eredményeit az Értekezés megírása után közöltük, de az eredmények egyrészt megerősítik a PEA jelentős szerepét, másrészt felvetik a 2-AG által kiváltott TRPV1 deszenzitizáció lehetőségét az elsődleges érző idegsejtek gerincvelői végződéseiben. Egyik munkánkban a hólyaggyulladás során történt anandamid és PEA szintek mérése, a hólyag aktivitásának mérése és a fájdalmas magatartási reakciók elemzésekor azt találtuk, hogy magas PEA és alacsony anandamid szint mellett fiziológiás a hólyagaktivitás és nincsenek fájdalmas magatartási reakciók (Charrua és munkatársai, 2020). Ez az alacsony anandamid és magas PEA szint fiziológiás körülmények között, illetve gyulladásban alacsony dózisú FAAH gátló adagolása során mérhető. FAAH gátló nélkül, illetve magas dózisú FAAH gátló adagolása során a gyulladt húgyhólyag magas anandamid és alacsony PEA szintet és hiperaktivitást mutat, illetve az állatok fájdalomra utaló magatartási reakciókat mutatnak.

A másik munkánkban a 20:4-NAPE által indukált anandamid szintézis hatását vizsgáltuk gerincvelői idegsejtek excitatorikus posztszinaptikus áramaira fiziológiás és gyulladásos körülmények között (Nerandzic és munkatársai, 2018). Mind a fiziológiás, mind a gyulladásos körülmények között a 20:4-NAPE adagolása gátló hatást váltott ki, azonban fiziológiás körülmények között a gátló hatás CB1 receptor-, míg gyulladásos körülmények között a gátló hatás TRPV1 függőséget mutatott. Így joggal vetődik fel, hogy a PEA-hoz hasonlóan az anandamid nem indukál-e 2-AG szintézist, illetve nem fokozza-e a 2-AG általi TRPV1 deszenzitizációt az elsődleges érző idegsejtekben.

Ami a kérdés második felét érinti, a PG-glicerín észterek szerepének tisztázása is egy fontos terület, hiszen talán még kevesebbet tudunk ezekről a molekulákról, mint a prostamidokról. Az hátsó gyöki dúcban a 2-AG szintézise és az elsődleges érző idegsejtekben a COX2 kifejeződése elvileg lehetővé teheti a PG-glicerín észterek keletkezését. Ezek közül a PGE2-glicerín észter fájdalmat (hő hiperalgiát és mechanikus allodíniát) vált ki (Hu és munkatársai, 2008). Valóban, az Értekezés befejezése után Khasabova és munkatársai (2019) kimutatták, hogy a sarlósejtes vérszegénység egér modelljében a PGE2-glicerín észter mennyisége jelentősen megemelkedik az elsődleges érző idegsejtekben, és ez az emelkedés a P2Y6 receptoron keresztül szenzitizálja a fájdalomérző elsődleges érző idegsejteket.

5. Opioid μ , delta receptorok szintén megtalálhatók a primer afferens neuronokon. Ismeretes-e kölcsönhatás az opioid, cannabinoid és TRPV1 receptorok között a primer szenzoros neuronokon?

Bármilyen jelzőrendszer működésének a vizsgálatakor, nagyon fontos az adott jelzőrendszernek a többivel való kapcsolatát is elemezni, hiszen a jelzőrendszerek nem önálló szigetenként, hanem összehangoltan, egymás működését befolyásolva és szabályozva működnek. Különösen fontos ez az endokannabinoidom működésének a vizsgálatakor, hiszen a cannabinoid receptorok aktiválásának hatására létrejövő válaszok egy része megegyezik más jelzőrendszerek aktiválásával létrejövő válaszokkal. Ha a fájdalomérzés szabályozását vizsgáljuk, akkor nyilvánvalónak tűnik, hogy mind a cannabinoidok, mind az opioidok elsősorban fájdalomcsökkentő hatásúak, míg a TRPV1 aktiválása elsősorban fájdalom kialakulásához vezet.

Fontos, hogy a CB1 receptor és a TRPV1 mellett, az opioid rendszer receptorai (μ , δ és κ) is kifejeződnek a fájdalomérző elsődleges idegsejtek egy jelentős hányadán (pl. Gamse és munkatársai, 1979, Ji és munkatársai, 1995, Corder és munkatársai,

2017). Míg a TRPV1 és a μ és δ opioid receptor közös kifejeződését kimutatták (pl. Chen és munkatársai, 2006, Fristad és munkatársai, 2005, Endres-Becker és munkatársai, 2007), addig, tudomásom szerint, a CB1 receptor és az opioid receptorok közös kifejeződésére csak indirekt adatok utalnak az elsődleges érző idegsejteken.

Ami a funkcionális kapcsolatokat illeti, a μ receptor aktiválása, hasonlóan a CB1 receptor aktiválásához, gátolja a kapszaicinnal kiváltott transzmitter felszabadulást (Jessel és Iversen, 1977, Yaksh, 1988) amiben a feszültség függő kalcium csatornák gátlásának nagy szerepe van. Azonban a μ opioid receptor aktiválása, gátló G fehérjén keresztül és cAMP-től függő módon, ezen kívül gátolja a TRPV1-on keresztül folyó kapszaicinnal kiváltott áramokat is mind kontrol, mind pedig gyulladáshoz vezető körülmények között (Endres-Becker és munkatársai, 2007).

Érdekes, és fontos ugyanakkor megemlíteni, hogy a TRPV1-t kifejező elsődleges érző idegsejteknek jelentős szerepe lehet az opioid tolerancia and az opioid-indukált hiperalgéria kialakulásában. Az intraperitoneálisan RTX-el kezelt patkányokban csökken ugyan a μ opioid receptor kifejeződése, de ez a csökkenés együtt jár a μ opioid agonisták fájdalom csökkentő hatáserejét a megemelkedésével. A μ opioid receptor génjének törlése a TRPV1-t kifejező sejtekből szintén gátolja a tolerancia és az opioid indukált hiperalgéria kifejlődését (Corder és munkatársai, 2017). Hogy magának a TRPV1-nak van-e valamilyen szerepe a tolerancia és hiperalgéria kialakulásában, nem tisztázott.

Ami a CB1 és az opioid receptorok funkcionális kapcsolatát illeti, az elmúlt 10-15 évben érdekes és nagyon fontos eredmények születtek. Egy jó ideje ismert, hogy a kannabinoidok és az opioidok befolyásolják egymás hatását, azonban a mechanizmust nem ismertük. Heterológ rendszerekben végül sikerült kimutatni, hogy a CB1 receptor és a μ opioid receptor heterodimert képeznek (Rios és munkatársai, 2006, Hajo és munkatársai, 2008). A δ és κ receptorok ilyen heterodimereket nem alkotnak. A CB1 - μ opioid receptor dimerekben mind a CB1 receptor, mind a μ opioid receptor funkcionális, és a két receptor közös G fehérjét használ. Ennek tudható be, hogy úgy tűnik mintha a két receptor egymás hatását gátolná. Tehát, a CB1 receptor aktiválása csökkenti a μ receptor aktiválással kiváltott GTP γ S felhalmozódást, és *vice versa*, a μ receptor aktiválása is csökkenti a CB1 receptor indukált GTP γ S felhalmozódást. A CB1 receptor a dimerekben is mutat alapaktivitást, így a CB1 inverz agonista megnöveli a morfin hatását (Canals and Milligan, 2007).

Arra vonatkozóan, hogy az elsődleges érző idegsejtekben is létrejönnek-e a CB1 receptor - μ receptor heterodimerek, eddig, legjobb tudásom szerint nincsenek direkt bizonyítékaink. A két receptor kapcsolata minden esetre másnak tűnik az elsődleges érző idegsejtekben és a heterológ rendszerekben. A perifériás szövetekbe injektált CB1 antagonisták ugyan nem kötődik a μ receptorhoz, de gátolja a μ receptor aktiválással kiváltott antinociceptív hatást. Ugyanakkor az anandamid szint emelése FAAH gátlóval megemeli a morfin hatását (Fonseca Pachero és munkatársai, 2008). Az intratekálisan adagolt agonisták, antagonisták hatása ugyanaz, mint a perifériásan adagoltaké (Fonseca Pachero és munkatársai, 2009)

6. Az eredmények alapján új terápiás célpontként vetődött fel, az anandamid szintézis csökkentése, ill. a CB1 receptor TRPV1-re gyakorolt szintetizáló hatásának gátlása. Azonban az endocannabinoidok szintézisének csökkentése egyéb központi idegrendszeri régiókban számos mellékhatást indukálhat. Másrészt, hogyan

valósítható meg a CB1 receptor TRPV1 szintézisét fokozó hatásának szelektív gátlása?

Valóban, szinte valamennyi adatunk arra utal, hogy az anandamid, legalább is patológiás körülmények között, excitatórikus hatású az elsődleges érző idegsejteken. Ezen adatok alapján az anandamid szint csökkentése szükséges a fájdalom csökkentéséhez. Itt kell megemlítenem, hogy a FAAH génhianyos egereket, amelyekben az anandamid szint jelentősen magasabb, mint a vad típusú egerekben, konzekvensen analgézias fenotípusúnak írták le. Andrea Hohmann és munkatársai (Carey 2016) azonban néhány éve kimutatták, hogy a FAAH génhianyos egerek a TRPV1 aktiválása után pro-nociceptív fenotípust mutatnak. Így adataik megerősítik a mi eredményeinket.

Míg Hohmann és munkatársai adatai megerősítik a mi anandamidra vonatkozó adatainkat, az Értekezés írásának befejezése után publikált gerincvelő méréseink (Nerandzic és munkatársai, 2018) azt mutatják, hogy az anandamidot szintetizáló enzimatis utak közös szubsztrátja, a 20:4-NAPE, mind naive mind perifériás gyulladás esetén csökkenti az excitatórikus posztszinaptikus áramokat. Azonban, ezekben a kísérletekben csak az anandamid szintjét mértük a gerincvelőben, ami esetleg hamis következtetésekhez vezethet.

Egy másik, az Értekezés írásának befejezése után publikált adatunk alapján (Charrua és munkatársai, 2020) valószínűleg módosítani szükséges azt a következtetést, hogy az anandamid szint csökkentése vezet el az elsődleges érző idegsejtek patológiás körülmények között kialakuló fokozott aktivitásának, így a fájdalomnak a csökkentéséhez. Ezek az adatok azt mutatják, hogy az anandamid szint csökkentése mellett, valószínűleg a PEA szint emelése (esetleg más endokannabinoidom molekulák szintjének a módosítása) is szükséges lehet, hogy helyreállítsuk az endokannabinoidomon belüli egyensúlyt. Érdekes módon, alacsony dóziszú, csak a periférián aktív FAAH gátlóval (URB937) az anandamid-PEA egyensúly helyreállítható, és ez együtt jár a hólyag hiperaktivitás és a fájdalomra utaló magatartás változások normalizálódásával. A magas dóziszú URB937 azonban nem csökkenti sem a hólyag hiperaktivitást sem a fájdalomra utaló magatartás változásokat. Arra vonatkozóan, hogy az alacsony dóziszú FAAH gátló hogyan képes helyreállítani az anandamid-PEA arányt, jelenleg nincsenek adataink. Az alacsony és magas dóziszok hatása közötti nagy különbség azt sugallja, hogy a URB937 nem csak a FAAH-n fejtheti ki a hatását. Ugyanakkor, az anandamid lebontásában, ahogy fentebb említettük, a FAAH kívül más enzimek is részt vesznek. Így, ugyan kis mértékben, de a LOX is képes az anandamid lebontására. A PEA lebontásában ugyanakkor a FAAH és az NAAA vesz részt. Tehát alacsony dóziszú URB937 esetén a kismértékben megnövekedő anandamidot a LOX esetleg el tudja távolítani, miközben a FAAH és esetleg a NAAA gátlás miatt a PEA mennyisége megemelkedik. Magas dóziszú URB937 esetén a LOX aktivitás nem képes a felgyülemlő anandamid lebontására, ugyanakkor a PEA lebontás valamilyen útvonalon felgyorsul, vagy a PEA szintézis csökken. Így az endokannabinoidomon belül az egyensúly nem áll helyre.

Az anandamid szint csökkentése a szintézis gátlásával tűnik lehetségesnek. Az anandamid szintézisében számos enzimatis út vesz részt. Az Értekezésben is bemutatott munkánk során vizsgáltuk, hogy azon enzimatis utak közül melyik fejeződik ki specifikusan a fájdalomérző elsődleges érző idegsejteken. Eredményeink több enzim jelenlétét is mutatják, amelyek közül az Inpp5 kifejeződése a legjelentősebb a TRPV1-t kifejező sejteken. Azonban Inpp5d fehérje a periférián egy sor más sejten is kifejeződik. Ezek közül a legjelentősebb a máj, csontvelő és a limfoid elemek. Az agyban a cortex, a hippocampus a bazális magok mutatják a

legmagasabb ismert Inpp5d fehérje kifejeződést. Ugyanakkor saját megfigyeléseink szerint a gerincvelőben a mikroglia specifikusan fejezi ki ezt az enzimet.

Ezen adatok alapján láthatjuk, hogy ugyan a vér-agy gáton áthatolni nem képes molekulákkal csökkenthetőek, elkerülhetőek a központi idegrendszer által generált nem kívánatos hatások, egy az elsődleges érző idegsejtek anandamid szintézisét gátló molekula a periférián egy sor nem kívánatos hatást tudna kifejteni. Így, nagy valószínűséggel az elsődleges érző idegsejtek egy csoportját kellene specifikusan megcélózni. Ez olyan inert szállító molekulákkal képzelhető el, amelyek specifikusan és szelektíven felismerik a célba vett idegsejteket és internalizációjuk után leadják az enzim gátlót. Egy másik talán drasztikusabb megoldás lehet a rövid gátló RNS hasonlóan sejtspecikus eljuttatása. Természetesen a sejtspecikus kezelés nem kidolgozott, így egy sor, eddig megválaszolatlan kérdést vett fel.

A CB1 receptor TRPV1-t szenzitizáló hatásának a blokkolása még bonyolultabbnak tűnik, hiszen nem tudjuk, hogy csak a CB1 receptor - TRPV1 fehérje komplexben résztvevő CB1 receptor vagy más CB1 receptorok is képesek szenzitizálni a TRPV1-t. Ennek a kérdésnek a megválaszolása után, ismét a szenzitizációt gátló molekula kifejlesztése, illetve annak célbajuttatása a kérdés, amire a választ meg kellene találni.

Tisztelettel,

Dr Nagy István

