

# Neuroimmunmoduláció a gyomornyálkahártyában

Fehér Erzsébet dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, Budapest

*Drága Bátyuskám emlékére,  
Aki a világ legjobb embere volt,  
Mindig mindenkinek segített,  
És örökké a példaképem.*

Számos neuropeptidről feltételezik, hogy részt vesz a gyomornyálkahártya védelmében és szerepet játszik a krónikus gastritis kialakításában. *Célkitűzés:* Arra kerestünk választ, hogy van-e morfológiai kapcsolat az idegrostok és az immunkompetens sejtek között, termelnek-e az immunsejtek is neuropeptideket, valamint létezik-e kolokalizáció TNF- $\alpha$ -val és NF- $\kappa$ -B-vel. *Módszer:* Immunhisztokémiai, konfokális lézer- és elektronmikroszkóppal vizsgáltuk az idegrostokat és immunkompetens sejteket ép és gastritises nyálkahártyában. *Eredmények:* Gyulladás hatására a neuropeptid-tartalmú idegrostok száma szignifikánsan megemelkedett. Az ép gyomornyálkahártyában a lymphocyták, plazmasejtek, hízósejtek mennyisége alacsony és soha sem mutatott immunfestést ezen neuropeptid-ellenanyagokra. Azonban gastritisben az immunkompetens sejtek egy része SP- és NPY-immunreaktivitást mutatott. Ezen sejtekben az SP kolokalizációban fordult elő a TNF- $\alpha$ -val és NF- $\kappa$ -B-vel. Az immunsejtek és a jelzett idegrostok közötti távolság 1  $\mu$ m vagy ennél is kevesebb volt. *Következtetések:* Az idegrostokból és az immunkompetens sejtekből felszabaduló mediátorok részt vesznek a neurogén gyulladás kialakulásában, a krónikus gastritis fenntartásában. Orv. Hetil., 2010, 47, 1930–1933.

**Kulcsszavak:** gastritis, SP, TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ -B, immunkompetens sejtek

## Neuroimmuno-modulation in gastric mucosa

Several neuropeptides were supposed to take place in the protection of gastric mucosa and play role in the development of gastritis. *Aim of the study:* To investigate morphological relationship between nerve fibres and immunocytes, to find out if these cells synthesize some neuropeptides and if there is any co-existence with TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ -B. *Methods:* Immunohistochemical, confocal laser microscopic methods were used to investigate nerve fibres, immunocompetent cells in control and gastritis mucosa. *Results:* The number of neuropeptide-containing nerve fibres increased significantly. In control stomach the number of lymphocytes, plasma cells, and mast cells was low and showed no immunoreactivity for neuropeptide antibodies. However, in gastritis, some of the immunocompetent cells were immunoreactive for SP and for NPY. Some of the SP immunoreactive cells showed also positive reaction for TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ -B. The distance between nerve fibres and immunocytes was 1  $\mu$ m or less. *Conclusions:* The increase of neuropeptides released from nerve fibres and immunocompetent cells can take part in neurogenic inflammation and generate chronic gastritis. Orv. Hetil., 2010, 47, 1930–1933.

**Keyword:** gastritis; SP; TNF- $\alpha$ ; NF- $\kappa$ -B; immunocompetent cells

(Beérkezett: 2010. szeptember 8.; elfogadva: 2010. október 5.)

A szervek működése komplex neurohormonális szabályozás alatt áll [1]. Az idegrendszer külső (nervus vagus, szimpatikus rostok, ganglion spinale) és belső (lokális enterális idegrendszer) része, a szisztémás hatású hormonok és a lokálisan termelődő mediátorok közösen szabályozzák az emésztőrendszer működését. Különö-

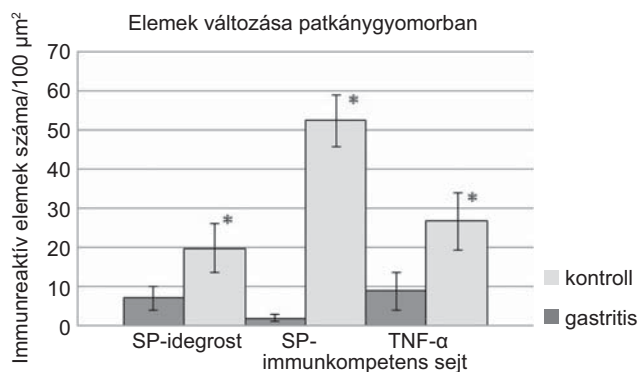
sen fontosak azok a kapszaicinszenzitív neuropeptid-tartalmú érző idegrostok, amelyek gasztroprotektív hatásúak [2, 3]. A szerv gyulladását előidéző anyagok lehetnek toxinok, baktériumok, kémiai anyagok, amelyek irritálják a nyálkahártyát. Számos peptid szabadulhat fel az idegelemekből, aminek hatására beindul a

nyálkahártya védekezőmechanizmusa: tágulnak az erek és fokozódik a vérátfolyás, olyan anyagok termelődnek, amelyek semlegesítik az erősen savas pH-t. A legismertebb ilyen neuropeptid a calcitonin gene-related peptid (CGRP) és a P anyag (substance P – SP), amelyek a külső és belső idegelemekből szabadulnak fel. A neuropeptidok és kapszaicinszenzitív vanilloid receptorok mennyisége megváltozik különböző kóros folyamatokban, így gastritisben is [4]. Abban az esetben, ha a kapszaicinszenzitív érzőrostokat kiiktatják, akkor enyhe irritáló hatásra is nagyon nagy nyálkahártya-nekrózis jöhet létre [5, 6]. A gastrointestinalis nyálkahártya nagyon fontos szerepet játszik a szervezet általános és immunvédekezésében [7]. Ezt a feladatot a szervekben található nyirokszövet látja el (gut associated lymphatic tissues – GALT). Gyulladás hatására a gyomor nyálkahártyájában az immun- (lymphocyták, plazmasejtek) és a gyulladásos sejtek (leukocyták, macrophagok és hízósejtek) mennyisége megnő. Munkánkban ezen sejtek gyűjtőfogalmára az „immunkompetens sejtek” néven klatúrát használjuk. Ezek a sejtek is számos anyagot szekretálnak, például szerotonint, prosztaglandinokat, leukotriéneket, citokineket, és számos más bioaktív anyagot [8, 9]. Az SP-pozitív immunkompetens sejtek száma szignifikánsan megemelkedik gyulladás hatására a nyelvben és a gyomorban is [10, 11].

Az immunitásban részt vevő sejtek a nyálkahártyájában néha nagyon közeli kapcsolatban található az idegrostokkal [12, 13, 14, 15]. Az idegrostok és az immunsejtek kétirányú kapcsolatát számos szerző már többször leírta, és azt is bizonyították, hogy a gyulladásos folyamatok visszahatnak az idegrendszer működésére [16]. Az SP-tartalmú idegrostból axonreflex által felszabaduló anyag gyulladásos reakciót vált ki [17]. Az SP-t gátló kapszaicinkezelés (SP-antagonistákkal) csökkenti a gyulladást előidéző citokinek mennyiségét és szignifikánsan gátolja a gyulladást [18, 19, 20]. Ha a hízósejteket SP-vel stimulálják, akkor fokozódik a tumornekrózis-faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) szekréciója.

Az aktivált transzkripció nukleáris faktor- $\kappa$ -B (NF- $\kappa$ -B) számos gén funkcióját szabályozza, így többek között a proliferációt, az angiogenezist, az inváziót és a daganatos sejtek metasztatizálását is. In vitro eredmények bizonyították, hogy az NF- $\kappa$ -B aktiválása a gyulladásos folyamatok kialakulásánál a kritikus első lépés, amelyet a citokinek fokozott termelése követ. Természetesen a gyulladást számos más kémiai mediátor is koordinálja, amelyek a környező immunkompetens sejtekből, a hámsejtekből és az idegrostokból is felszabadulhatnak. Számos szerző feltételezi, hogy a gyulladás létrejöttét vagy krónikusá válását az okozza, hogy az idegrostok és az immunkompetens sejtek között meg bomlik az egyensúly.

Ezért a legutóbbi munkánk során arra kerestük a választ, hogy van-e közvetlen morfológiai kapcsolat az idegrostok és az immunkompetens sejtek között, termelnek-e az immunsejtek is neuropeptideket, valamint



1. ábra SP immunreaktív idegrostok és immunkompetens sejtek mennyiségének változása krónikus gastritisben. Csillag jelzi a szignifikáns változásokat

létezik-e SP- és TNF- $\alpha$ -, NF- $\kappa$ -B-kolokalizáció a sejtekben.

## Anyag és módszer

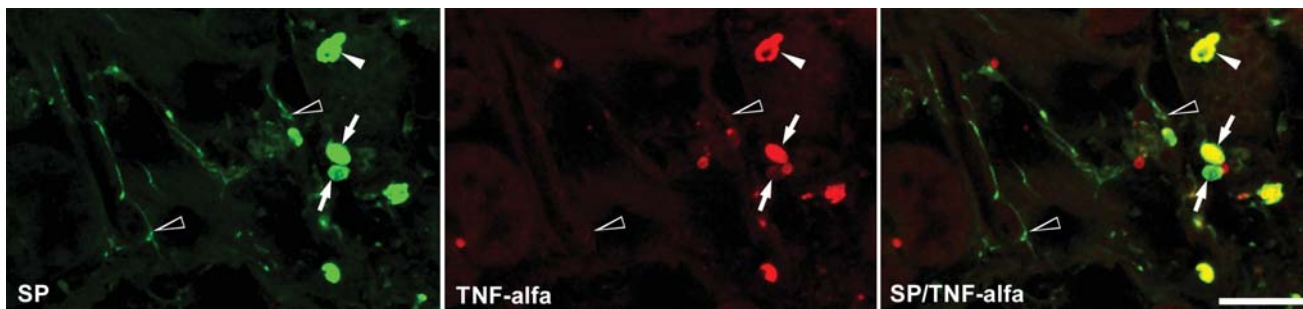
Kísérletes gastritist 0,1%-os jódecetsavval indukáltunk patkányokban. Humán anyagmintákat *Helicobacter pylori*-fertőzött biopsziás mintákból (krónikus gastritis) és gyomorrák gyanúja miatt eltávolított mintákból gyűjtöttünk („ép”) a betegek írásos hozzájárulásával, az illetékes etikai bizottságok engedélyének birtokában (TUKÉB: 85/2006).

A kivett mintákat Zambóni oldatban fixáltuk, majd a primer szérummal való inkubálás után avidin-biotin komplex segítségével peroxidáz reakciót végeztünk. Primer szérumok: SP, vasoactive intestinal polypeptid (VIP), neuropeptid Y (NPY), CGRP, TNF- $\alpha$  (NF- $\kappa$ -B). A metszetek másik részén kettős fluoreszcens jelölést használtunk és lézer konfokális mikroszkóppal értékeltük ki a festést. Az anyagok egy részéből elektronmikroszkópos metszeteket is készítettünk, ahol az idegrostokat és az immunkompetens sejteket analizáltuk, valamint vizsgáltuk azok morfológiai kapcsolatait.

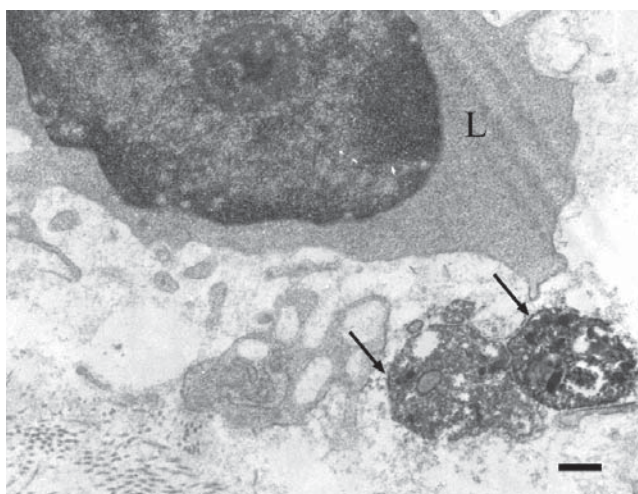
A fénymikroszkópos metszeteken megszámloltuk a különböző immunjelzett képleteket, majd statisztikailag értékeltük. Ha  $p < 0,05$  volt, akkor azt az eredményt szignifikánsnak tekintettük.

## Eredmények

A lamina propriát az alapszerkezetet alkotó laza rostos kötőszöveti sejteken kívül a lymphocyták, plazmasejtek, hízósejtek, a hámokban található endokrin sejtek, valamint az idegrostok alkotják. SP-, VIP-, NPY-immunfestéssel csak az idegelemek mutattak jelzést a kontrollanyagokban. Gyulladás hatására azonban az immunkompetens sejtek egy része is immunreaktivitást mutatott SP- és NPY-ra. A jelzett sejtek nagy része lymphocytá, hízósejt és elvéve egy-egy plazmasejt. Gyulladás hatására az SP-, NPY- és a VIP-tartalmú idegrost-



2. ábra Gyulladt nyálkahártya részlete patkánygyomorból. Konfokális lézermikroszkópos kép az SP és a TNF- $\alpha$  immunreaktív elemek kimutatására. Zöld szín tünteti fel az SP immunreaktív szöveti elemeket. Az SP-pozitív idegrostokat üres nyílhegy, az aktivált lymphocytákat és az SP-pozitív hízósejtet nyilak jelzik. Piros szín jelzi a TNF- $\alpha$  immunreaktív lymphocytákat. Üres nyílhegyeknél látható, hogy az idegrostok nem tartalmaznak TNF- $\alpha$ -t. A dupla jelzésnél sárga szín tünteti fel azon sejteket, ahol az SP kolokalizációban található a TNF- $\alpha$ -val. Nagyítási méret = 50  $\mu$ m



3. ábra Elektronmikroszkópos felvétel gyulladt humán gyomor nyálkahártyából. Az SP-pozitív idegrostok (nyilak) közvetlen morfológiai kapcsolatban helyezkednek el a lymphocytá (L) mellett. Nagyítási méret = 1  $\mu$ m

tok száma szignifikánsan megemelkedett. Gastritisben a TNF- $\alpha$ , az NF- $\kappa$ -B-pozitív immunkompetens sejtek száma is szignifikánsan megemelkedett. Az aktivált immunsejtek (TNF- $\alpha$ -val, NF- $\kappa$ -B-vel) mennyiségének emelkedése korrelált az SP-tartalmú idegrostok mennyiségének növekedésével (1. ábra).

Kettős jelzés után konfokális lézermikroszkóp segítségével bizonyítottuk, hogy az SP-kolokalizációban található a TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ -B egyes immunkompetens sejtekben (2. ábra). Kísérletes gastritisben az immunkompetens sejtek 23,9% $\pm$ 1,30%-a egyaránt jelölődött SP és a TNF- $\alpha$  ellananyagra.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok bebizonyították, hogy immunreaktivitást az idegrostok (3. ábra), a lymphocyták és hízósejtek mutattak. A immunreaktív denz szemcsék a citoplazmában és a sejtmembránhoz kötötten fordulnak elő az idegrostokban és az immunkompetens sejtekben a neuropeptidek és a TNF- $\alpha$  inkubálása után. Az NF- $\kappa$ -B antiszérummal való inkubálás után azonban az immunreakció a sejtmagban található, ami azt mutatja, hogy ez az enzim aktiválódott és transz-

lokálódott a sejtmagba. Az SP-tartalmú idegrostok és az immunkompetens sejtek közötti távolság nagyon gyakran 1  $\mu$ m volt, néha még ennél is kevesebb, gyakran 200 nm volt a távolság. Egyes mintákban az ilyen közeli hízósejtekben degranuláció volt megfigyelhető.

## Megbeszélés

Vizsgálataink tovább erősítik azt a tényt, hogy az SP részt vesz a neurogén gyulladás kialakításában mind kísérletes gyulladásban, mind humán gastritisben [21, 22]. Kísérletes adatok bizonyították, hogy az immunkompetens sejtek (a neutrofil és eozinofil granulocyták, lymphocyták, monocyták, macrophagok és hízósejtek) sejtmembránja neurokinin K1R (NK1R) receptorokat tartalmaznak [23, 24]. In vitro vizsgálatok azt is demonstrálták, hogy SP hatására a hízósejtek fokozottan termelik a TNF- $\alpha$ -t, és a TNF- $\alpha$ -mRNS is megemelkedik [25], amely emelkedést az SP-antagonisták gátolnak [26]. A gyulladás hatására megemelkedett SP-szint, amely nemcsak az idegrostokból, hanem az aktivált immunkompetens sejtekből is származik, minden bizonynyal szerepet játszik a gyulladás kialakulásában, a mirigyek fokozott működésében, a vérátfolyás megváltozásában, valamint a simaizomsejtek kontrakciójában. Fokozza a gyulladást előidéző citokinek mennyiségét, ezáltal tovább fokozza a gyulladást [27, 28]. Az idegelemekből felszabaduló SP befolyásolja a gyomor működését, az immunkompetens sejtek által termelt biogén anyagok termelését (citokinek, kemokinek, különböző peptidek, hormonok), ezáltal még tovább fokozódik a gyulladás [29]. Azzolina és mtsai [30] az SP által aktivált hízósejtekben bizonyították az NF- $\kappa$ -B és a TNF- $\alpha$  közötti közvetlen (transzkripció) kapcsolatot. Ha blokkoljuk az SP és az NK-1R kapcsolatát, akkor megszakad a gyulladást okozó kaskád, amely fokozza és fenntartja az emésztőrendszer gyulladását. A kapszaicin, amely a fájdalomérző idegeket gátolja, teljesen megszüntetheti a colitis kialakulását [31]. A krónikus gyulladást okozó betegségekben TNF- $\alpha$ -antagonista kezelés is szóba jöhet, ami szelektíven gátolja a TNF- $\alpha$ -receptorokat [32].

## Következtetés

Munkánkkal további morfológiai adatokat szolgáltatunk az ideg- és immunrendszer kétirányú kapcsolatához, bizonyítottuk, hogy az aktivált immunkompetens sejtek is termelnek bizonyos neuropeptideket (SP, VIP, NPY), amelyek fontos szerepet játszanak a gyulladás kialakulásában, annak fenntartásában. Az aktivált lymphocyták és hízósejtek egy részében az SP kolokalizálva fordul elő a TNF- $\alpha$ -val és NF- $\kappa$ -B-vel. A krónikus gyulladások kezelésében a jövőben valószínűleg olyan kombinált anyagok jöhetnek létre, amelyek megszakítják az axonreflexet és csökkentik a TNF- $\alpha$  termelését is.

## Irodalom

- [1] Sundler, F., Bottcher, G., Ekblad, E. és mtsa: The neuroendocrine system of the gut. *Acta Oncol.*, 1989, 28, 303–314.
- [2] Szolcsányi, J., Barthó, L.: Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastroprotection: an update. *J. Physiol. Paris*, 2001, 95, 181–188.
- [3] Gyires, K.: Neuropeptides and gastric mucosal homeostasis. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2004, 4, 63–73.
- [4] Dömötör, A., Peidl, Z., Vincze, Á. és mtsai: Immunohistochemical distribution of vanilloid receptor, calcitonin gene-related peptide and substance P in gastrointestinal mucosa of patients with different gastrointestinal disorders. *Inflammopharmacology*, 2005, 1, 1–17.
- [5] Holzer, P., Livingston, E. H., Sarria, A. és mtsa: Sensory neurons mediate protective vasodilatation in rat gastric mucosa. *Am. J. Physiol.*, 1991, 260, G363–G370.
- [6] Reinsbagen, M., Patel, A., Sottili, M. és mtsai: Action of sensory neurons in an experimental rat colitis model of injury and repair. *Am. J. Physiol.*, 1996, 270, G79–G86.
- [7] McCowen, I., Chalmers, A., Smith, G. R. és mtsa: Advances in mucosal immunology. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 1997, 26, 145–173.
- [8] Cooke, H. J.: Neuroimmune signaling in regulation of intestinal ion transport. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 1994, 266, G599–G610.
- [9] Metcalfé, D., Baram, D., Meker, Y. A.: Mast cells. *Physiol. Rev.*, 1997, 97, 1033–1079.
- [10] Batbayar, B., Nagy, G., Kövesi, G. és mtsai: Morphological basis of sensory neuropathy and neuroimmunomodulation in minor salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Arch. Oral Biol.*, 2004, 49, 529–538.
- [11] Sipos, G., Altdorfer, K., Pongor, É. és mtsai: Neuroimmune link in the mucosa of chronic gastritis with *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis. Sci.*, 2006, 51, 1810–1817.
- [12] Stead, R. H., Tomioka, M., Quinonez, G. és mtsai: Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 84, 2975–2979.
- [13] Stead, R. H., Dixon, M. F., Branwell, N. H. és mtsai: Mast cells are closely apposed to nerves in the gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology*, 1989, 97, 575–585.
- [14] Fehér, E., Kovách, Á., Gallatz, K. és mtsa: Direct morphological evidence of neuroimmunomodulation in colonic mucosa of patients with Crohn's disease. *Neuroimmunomodulation*, 1997, 4, 250–257.
- [15] Fehér, E., Altdorfer, K., Bagaméri, G. és mtsa: Neuroimmune interactions in experimental colitis. *Neuroimmunomodulation*, 2001, 9, 247–255.
- [16] Elenkov, I. J.: Neurohormonal-cytokine interactions: Implications for inflammation, common human diseases and well being. *Neurochemistry Int.*, 2008, 52, 40–51.
- [17] Nsouli, T. N., Nsouli, S. M., Bellanti, J. A.: Neuroimmunoallergic inflammation: New pathogenetic concepts and future perspectives of immediate and late allergic reactions. Part II. *Ann. Allergy*, 1988, 60, 483–492.
- [18] Sio, S. W. S., Puthia, M. K., Lu, J. és mtsai: The neuropeptide substance P is a critical mediator of burn-induced acute lung injury. *J. Immunol.*, 2008, 180, 8333–8341.
- [19] Eglezos, A., Adreus, P. V., Boyd, R. L. és mtsa: Effect of capsaicin treatment on immunoglobulin secretion in the rat. Further evidence for involvement of tachykinin-containing afferent nerves. *J. Neuroimmunol.*, 1990, 26, 131–138.
- [20] Sándor, K., Helyes, Z., Elekes, K. és mtsa: Involvement of capsaicin-sensitive afferents and the Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Receptor in xylene-induced nocifensive behavior and inflammation in the mouse. *Neurosci. Lett.*, 2009, 451, 204–207.
- [21] Larauche, M., Anton, P. M., Peiro, G. és mtsai: Role of capsaicin-sensitive afferent nerves in different models of gastric inflammation in rats. *Auton. Neurosci.*, 2004, 110, 89–97.
- [22] Sipos, G., Sipos, P., Altdorfer, K. és mtsai: Correlation and immunolocalization of substance P nerve fibres and activated immune cells in human chronic gastritis. *Anat. Rec.*, 2008, 91, 1140–1148.
- [23] Ho, W. Z., Lai, J. P., Hzu, X. H. és mtsai: Human monocytes and macrophages express substance P and neurokinin-1 receptor. *J. Immunol.*, 1997, 159, 5654–5660.
- [24] Lai, J. P., Douglas, S. D., Ho, W. Z.: Human lymphocytes express substance P and its receptor. *J. Neuroimmunol.*, 1998, 86, 80–86.
- [25] Conchiara, R., Bongiovanni, A., Albeggiani, G. és mtsa: Substance P selectively activates TNF- $\alpha$  mRNA in rat uterine immune cell: a neuroimmune link. *NeuroReport*, 1997, 8, 2961–2984.
- [26] Conchiara, R., Lampiasi, N., Albeggiani, G. és mtsai: Mast cells production of TNF- $\alpha$  induced by substance P evidence for a modulatory role of substance P antagonist. *J. Neuroimmunol.*, 1999, 101, 128–136.
- [27] O'Connor, T., O'Connell, J., O'Brien, D. és mtsai: The role of substance P in inflammatory disease. *J. Cellular Physiol.*, 2004, 201, 167–180.
- [28] Csaba, G., Pállinger, É.: In vitro effect of hormones on the hormone content of rat peritoneal and thymic cells. Is there an endocrine network inside the immune system? *Inflamm. Res.*, 2007, 56, 447–451.
- [29] Pállinger, É., Csaba, G.: Presence and distribution of biogenic amines (histamine, serotonin and epinephrine) in immunophenotyped human immune cells. *Inflamm. Res.*, 2008, 57, 530–537.
- [30] Azzolina, A., Bongiovanni, A., Lampiasi, N.: Substance P induces TNF- $\alpha$  and IL-6 production through NF- $\kappa$ B in peritoneal mast cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003, 1643, 76–83.
- [31] Gad, M., Pedersen, A. E., Kristensen, N. N. és mtsai: Blockage of the neurokinin 1 receptor and capsaicin-induced ablation of the enteric afferent nerves protect SCID mice against T-cell-induced chronic colitis. *Inflamm. Dis.*, 2009, 15, 1174–1182.
- [32] Kollias, G.: TNF pathophysiology in murine models of chronic inflammation and autoimmunity (review). *Semin. Arthritis Rheum.*, 2005, 34, 3–6.

(Fehér Erzsébet dr.,  
Budapest, Tűzoltó u. 5., 1094  
e-mail: feher@ana.sote.hu)