

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Anna Kratinová

Nociceptivní přenos a jeho modulace na míšní úrovni
Nociceptive transmission and modulation at the spinal cord level

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Petra Mrózková, PhD.

Praha, 2021

**Charles University
Faculty of Science**

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Petře Mrózkové, PhD. za její vstřícný přístup a trpělivost při vedení práce. Děkuji také především rodičům a své spolubydlící za poskytnutí zázemí i psychické podpory při psaní práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze

Podpis

Abstrakt

Bolest je komplexní smyslový a emoční prožitek, většinou nepříjemný a intenzivní, který signalizuje reálné či možné poškození tkáně. Za fyziologických podmínek má proto bolest naprosto zásadní význam pro živé organismy – aktivuje stresové mechanismy, pomocí kterých se organismus snaží poškození bránit. Při vzniku a rozvoji patologických bolestivých stavů nicméně bolest tuto funkci ztrácí, a je naopak sama příčinou dalších komplikací a všeobecného snížení kvality života.

Pro vznik bolesti jsou zásadní nociceptivní mechanismy – od aktivace vnímání podnětu nociceptorem přes nociceptivní přenos vedoucí signál ke zpracování a vyhodnocení v centrální nervové soustavě (CNS). Patologické bolestivé stavy jsou charakterizované zvýšenou citlivostí k podnětům, a to jak na úrovni nociceptorů (snížení prahu jejich aktivace), tak na úrovni CNS. Právě modulace nociceptivního přenosu na míšní úrovni a vliv mikroglíí na něj je hlavním tématem této práce.

V současné době se pozornost vědy záměrně upírá ke gliovým buňkám, které mají významný modulační vliv na nociceptivní synaptický přenos na míšní úrovni při neuropatických stavech. Poznání těchto mechanismů poškození nervu by mohlo mít zásadní význam pro rozvoj cílenější a efektivnější léčby patologických bolestivých stavů. Práce se proto bude věnovat základům nociceptivní signalizace a také úloze gliových buněk mikroglíí a jejich interakcím na míšní úrovni.

Klíčová slova: Bolest, nocicepce, nociceptor, spinální ganglia, mícha

Abstract

Pain is a complex sensual and emotional experience, usually unpleasant and intensive, signaling real or potential tissue damage. Therefore it has an absolutely essential function for living organisms under physiological conditions – as it activates the stress mechanisms needed for the organism to try and avoid the damage. However, when pathological pain conditions states arise, pain loses its key protective function and causes further damage and an overall decrease in life quality.

Nociceptive mechanisms are crucial for the perception of pain – from nociceptor activated by the stimulus receiving nociceptor to the nociceptive transmission conveying the signal to its integration and processing in the central nervous system (CNS). Pathological pain states are then characterized by an increase in sensitivity to the stimulus – both on the nociceptor level (decreasing their activation threshold) and the central level. The main focus of this thesis is on modulation of nociceptive transmission at the spinal cord level and the role of microglia cells in it.

Lately modern science pays high attention to the function of glial cells. Elucidating their role in the modulation of nociceptive transmission at the spinal cord level could be crucial for finding more effective and precise ways of curing and caring for people with pathological pain conditions. Thus this thesis will also cover the role of glial cells and their interaction in the spinal cord and the spinal ganglia.

Key words: Pain, nociception, nociceptor, spinal ganglion, spinal cord

Seznam použitých zkratek

ACh – acetylcholin

AMPA receptor – α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor

ATP – adenosintrifosfát

BBB – blood brain barrier, bariéra mezi mozkem a oběhovou krví

CFA – complete Freund's adjuvant, roztok navozující zánětlivou reakci

CMR – cold and menthol receptor

CNS – centrální nervová soustava

COX-2 – cyklooxygenáza 2

CPSP – central post-stroke pain, centrální bolest po mrtvici

DAG – diacylglycerol

DNP – diabetich neuropathic pain, diabetická neuropatická bolest

DRG – dorsal root ganglia, zadní míšní ganglia

DSPN – distal symmetrical polyneuropathy

EAA – excitatory amino acids, excitační aminokyseliny

EPSP – excitatory postsynaptic potential, excitační postsynaptický potenciál

ERK – extracellular signal-regulated kinase

FKN – fraktalkin

GABA – gamma-aminobutyric acid, kyselina gama-aminomáselná

GluR – glutamate receptor – receptory glutamátu a dalších EAA

iGluR – ionotropic glutamate receptor

mGluR – metabotropic glutamate receptor

GlyR – glycin receptor

GPCR – G protein-coupled receptor, receptor spřažený s G proteiny

IASP – The International Association for the Study of Pain

IBS – irritable bowel syndrome, syndrom dráždivého tračníku

ICD – International Classification of Diseases

IFN – interferony

IL – interleukiny

IM – inflammatory mediators, zánětlivé mediátory

iNOS – inducible nitric oxide synthase

IP₃ – 1,4,5-inositol triphosphate

IPSP – inhibitory postsynaptic potential, inhibiční postsynaptický potenciál

IS – inflammatory soup, „zánětlivá polévka“

LTP – long term potentiation

MAPK – mitogeny aktivované kinázy

NGF – nerve growth factor, nervový růstový faktor

NK – neurokinin receptor

NMDAR – N-methyl-D-aspartate receptor

PAF – primary afferent fibres, primární aferentní vlákna

PAG – periaqueductal gray, periaqueduktální šedá kůra

PGE₂ – prostaglandin E₂

PKC – proteinkináza C

PLC – fosfolipáza C

PNS – periferní nervová soustava

SFKs – Src family kinases

SNL – spinal nerve ligation – ligace míšního nervu, typický model neuropatické bolesti

TGF- β – transforming growth factor- β

TLR4 – toll-like receptor 4

TNF- α – tumor necrosis factor- α

TRP – transient receptor potential

TRPA – ankyrin

TRPM – melastatin

TRPV – vanilloid

VR – vanilloid receptor

VRL – vanilloid receptor-like

VR-OAC – vanilloid receptor-related osmotically active channel

WHO – Světová zdravotnická organizace

Obsah

1. Úvod	9
2. Anatomie nociceptivního systému	10
2.1 Nociceptory	10
2.2 Mícha	10
2.3 Projekční neurony a ascendentní dráhy	12
2.4 Descendentní dráhy	13
2.5 Gliové buňky nervové soustavy	13
2.5.1 Astrocyty	14
2.5.2 Oligodendrocyty	14
2.5.3 Ependymové buňky	14
2.5.4 Mikroglie	14
3. Fyziologie nociceptivního systému	15
3.1 Nociceptory	15
3.1.1 Nociceptory aktivované teplotou	15
3.1.2 Nociceptory aktivované mechanickým podnětem	16
3.1.3 Nociceptory aktivované chemickým podnětem	17
3.2 Neurotransmitery	17
3.2.1 Excitační neurotransmitery	18
3.2.2 Inhibiční neurotransmitery	19
4. Patofyziologie	21
4.1 Zánět a mechanismy periferní sensitizace	21
4.2 Chronická bolest	23
4.2.1 Primární chronická bolest	23
4.2.2 Chronická bolest spojená s rakovinou	23
4.2.3 Chronická pooperační a posttraumatická bolest	23
4.2.4 Chronická neuropatická bolest	24
4.2.5 Chronické bolesti hlavy a orofaciální	24
4.2.6 Chronická viscerální bolest	24
4.2.7 Chronická bolest svalů a skeletu	24
4.3 Neuropatická bolest	24
5. Role gliových buněk v modulaci nociceptivního přenosu na míšní úrovni	27
5.1. Centrální sensitizace	27

5.2 Role mikroglíí v nocicepci	28
5.2.1 Mikroglie v klidovém stavu.....	28
5.2.2 Aktivace mikroglíí	29
5.2.3 Zásadní signální molekuly aktivovaných mikroglíí.....	30
5.2.4 Interakce mezi neurony a mikroglíemi.....	30
5.2.5 Pohlavní rozdíly ve vnímání bolesti a aktivitě mikroglíí	31
6. Závěr	33
7. Seznam použitých zdrojů.....	34
Převzaté obrázky	39
Seznam knih a použitých webů	39

1. Úvod

Mezinárodní asociace pro výzkum bolesti IASP (The International Association for the Study of Pain) definuje bolest jako „nepříjemný smyslový a emoční zážitek, který je spojený se skutečným či potenciálním poškozením tkáně či je takto popisován“ (Treede 2018). Z této definice vyplývá, že bolest nejenže má neopominutelnou emoční složku „nepříjemného pocitu“, ale také nemusí být nutně vázána na žádný stimulus. Pro pocit bolesti není vyžadována skutečná patofyziologická příčina.

Nocicepce je dle IASP definována jako rozpoznání a vnímání škodlivého stimulu (ve smyslu, stimulu schopného poškození tkání). Samotná nocicepce nemusí nutně vést k pocitu bolesti. Nociceptivní signál vzniká podrážděním nociceptorů, což jsou zakončení sensorických neuronů specificky reagující na podněty mechanické, teplotní či chemické.

Schopnost vnímat bolest je pro život zásadní a prospěšná, neboť stimuluje snahu organismu o sebezáchovu. Fyziologická bolest pomáhá organismům přežít a vyvarovat se poškození, což se dá dobře ilustrovat na případech lidí s vrozenou necitlivostí k bolesti, kteří často umírají v nízkém věku vlivem zanedbání vlastních zranění. Bolest však může být i patologická, kdy svůj význam pro ochranu před poškozením ztrácí, a naopak sama působí škodlivě a zhoršuje kvalitu života. Typem patologické bolesti je například bolest chronická, která na rozdíl od akutní přetrvává i dlouho poté, co byl odstraněn podnět, který ji způsobil. Dalším typem patologické bolesti je bolest neuropatická, kdy bolestivý podnět nevzniká nutně stimulací tkáňových receptorů, ale přímo v periferním či centrálním nervovém systému.

Bolest je velmi komplexní a plastický mechanismus, který může být modulován na takřka všech stupních procesu svého vzniku, přenosu a vyhodnocení. Je zásadní studovat bolest po fyziologické i anatomické stránce, neboť s novými objevy v těchto oblastech přicházejí i nové metody a možnosti ovlivňování pocitu bolesti.

Tato bakalářská práce se bude věnovat právě mechanismům patologických bolestivých stavů. Cílem je především shrnout dosavadní poznatky na téma bolest a nocicepce se zaměřením na modulační vliv aktivovaných gliových buněk. Téma gliových buněk by také mohlo být podkladem pro následnou diplomovou práci.

2. Anatomie nociceptivního systému

Nociceptivní systém anatomicky sestává z dráhy vedoucí podněty od jejich receptorů (primárních aferentních nociceptorů) primárními aferentními vlákny (PAF – primary afferent fibres) až k místům zpracování informace o podnětu (thalamu a insulární kůry).

2.1 Nociceptory

Nociceptory jsou primární senzorké neurony, které reagují na různé typy stimulů. Jejich hlavním úkolem je přenos informace z periferií těla do míchy. Těla nociceptorů jsou umístěna v zadních míšních gangliích (DRG – dorsal root ganglia), pokud mluvíme o receptorech vnímajících podněty z těla, nebo v trigeminálním gangliu, jestliže mluvíme o receptorech vnímajících podněty z oblasti obličeje (Basbaum et al. 2009).

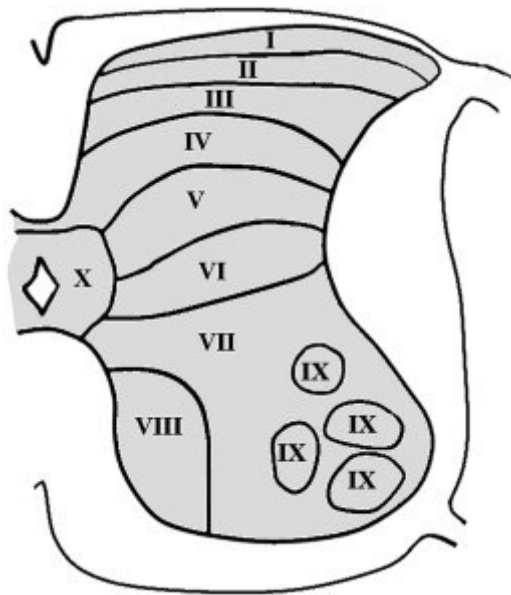
Existují tři hlavní typy nociceptivních neuronů rozlišené dle rychlosti přenosu signálu. Rychlost přenosu axonem záleží na průměru vláken a myelinizaci:

- $A\beta$ – velký průměr vlákna (6–12 μm), myelizované vlákno. Vedou signál velmi rychle (36–72 m/s). Vnímají především lehký dotek.
- $A\delta$ – střední průměr vlákna (1–6 μm), myelizované vlákno. Vedou signál středně rychle (4–36 m/s). Zodpovídají především za vnímání dobře lokalizovatelné „první“ rychlé bolesti.
- C – malý průměr vlákna (0,2–1,5 μm), nemyelizované vlákno. Vedou signál pomalu (0,4–2 m/s). Zodpovídají za vnímání bolesti špatně lokalizovatelné, pomalé (Millan 1999, Kandel, Schwartz and Jessell 2013).

Tyto axony vedou do zadního rohu míšního (Kandel et al. 2013).

2.2 Mícha

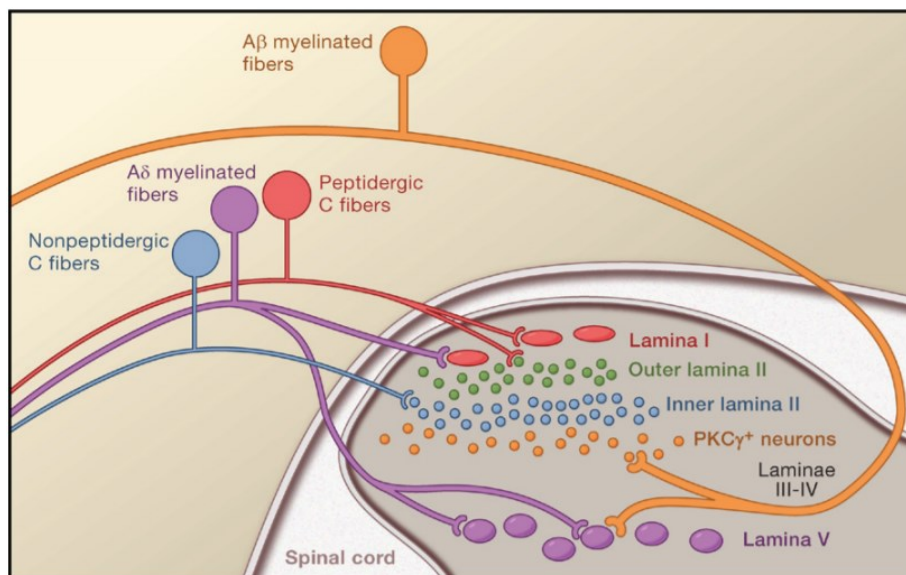
Mícha je součástí centrálního nervového systému (CNS). Je uložena uvnitř páteřního kanálu a obalují ji míšní obaly – ze směru zevnějšku dovnitř je to dura mater spinalis, arachnoidea spinalis a pia mater spinalis. Mícha je organizována do šedé a bílé hmoty, podobně jako mozek, ale na rozdíl od toho je v míše šedá hmota umístěna centrálně a bílá na periferiích. Šedou hmotu tvoří těla neuronů a je uspořádána tak, že tvoří přední (ventrální) a zadní (dorsální) rohy míšní dobře zřetelné na příčném řezu (Čihák 2004, Millan 1999). Šedá hmota míšní je uspořádána do deseti tzv. Rexedových lamin (Obr.1) podle specifických typů a funkce míšních neuronů, napojení na PAF a přenášené informace. Ventrální rohy míšní tvoří především motorické neurony. Do dorsálních rohů míšních vedou axony primárních nociceptivních neuronů.



Obrázek 1 – uspořádání Rexedových lamin ve ventrálním (dole) a dorsálním (nahore) rohu míšním.

Převzato z Gillian Morriss-Kay, Academic Press: Kaufman's Atlas of Mouse Development Supplement, 2015

V dorzálních míšních rozích dochází k přepojení nociceptivních periferních aferentních vláken neuronů na míšní projekční neurony. Různé typy jsou schopny přenášet rozdílné komponenty nociceptivní informace (Obr. 2). Nemyelinizovaná C vlákna vstupují do povrchových lamin I a vnější laminy II. Myelinizovaná A β a A δ vlákna jsou přepojována na projekční neurony v hlubších laminách zadního rohu míšního (Basbaum et al. 2009).



Obrázek 2 – projekce různých typů vláken do různých lamin zadního kořenu míšního.

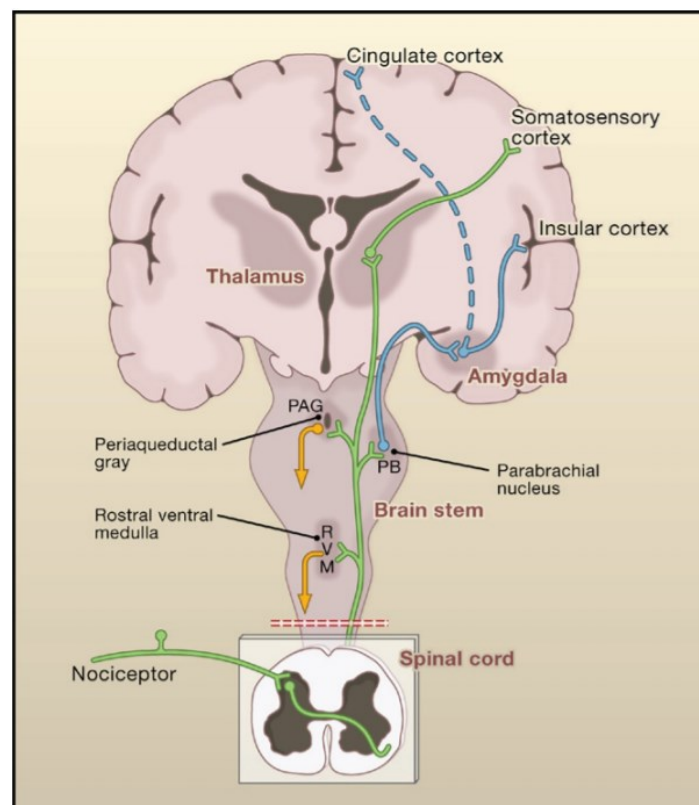
Převzato z Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D.: Cellular and molecular mechanisms of pain. Cell, 2009

2.3 Projekční neurony a ascendentní dráhy

Projekční neurony zajišťují ascendentní (vzestupné) dráhy bolesti vedoucí informaci ze zadního rohu míšního do mozku (Obr 3.). Rozlišujeme dráhu spinothalamickou a spinoreticulothalamickou. Informace o bolesti je těmito drahami vedená jednak do thalamu – odkud je dále přenášena do somatosenzorické kůry koncového mozku, zajišťující především vyhodnocení lokalizace a intenzity bolestivého stimulu – jednak do mozkového kmene, kde je přes parabrachiální jádro a amygdalu informace přenášena do insulární kůry. Zde se zpracovává především emoční složka bolesti (Willis and Coggeshall 2004).

Z tohoto kromě jiného vyplývá, že neexistuje jedna konkrétní oblast mozku zpracovávající bolest celkově. Bolest je komplexní prožitek, jehož jednotlivé komponenty jsou vyhodnocovány v různých mozkových oblastech (Apkarian et al. 2005).

Kromě těchto drah vedou projekční neurony informaci i do rostrální ventrální míchy a periaqueduktální šedi (Basbaum et al. 2009).



Obrázek 3 – ascendentní a descendentní dráhy bolesti. Převzato z Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D.: *Cellular and molecular mechanisms of pain.* Cell, 2009

2.4 Descendentní dráhy

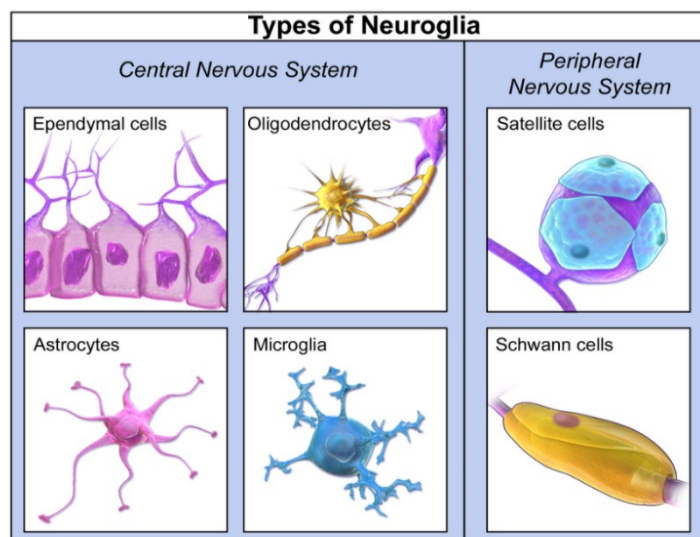
Descendentní (sestupné) dráhy jsou zásadní pro modulaci nociceptivního přenosu. Vedou z mozkového kmene zpět na míšní úroveň a zajišťují interakci ve smyslu zpětné vazby – do velké míry rozhodují o vedení nociceptivní informace do mozku a její následné integraci (Willis and Coggeshall 2004). Mohou nociceptivní signál ovlivňovat pozitivně, zvyšovat jeho intenzitu. Tomuto ději se říká descendentní facilitace, kdy mechanismy sestupných drah vyvolávají excitaci na primárních aferentních zakončeních či přímo na neuronech v dorsálním rohu (Millan 2002).

Mohou však mít i inhibiční účinky (descendentní inhibice), kdy snižují intenzitu přenosu nociceptivní informace – kdy se vylévají inhibiční neuropřenašeče (GABA /glycin /serotonin /dopamin /noradrenalin), které utlumí nociceptivní přenos skrze aktivaci svých receptorů a snížení excitability neuronů v míše. Důležité je si taky uvědomit, že stejné neuropřenašeče mohou mít excitační i inhibiční účinek; záleží, jaký konkrétní receptor v míše aktivují. (Millan 2002).

2.5 Gliové buňky nervové soustavy

Kromě neuronů se v CNS i PNS vyskytují také gliové buňky (Obr. 4), které samotné neprodukují elektrické impulzy, ale svou funkcí a strukturou jsou nezbytné pro správné fungování nervové soustavy. Oproti neuronům vykazují gliové buňky mnohem větší diverzitu, co se týče buněčných typů, struktur i funkcí (Fields et al. 2014).

V centrální nervové soustavě nacházíme jako hlavní typy gliových buněk astrocyty, oligodendrocyty, ependymální buňky a mikroglie. V periferní nervové soustavě jsou to Schwannovy buňky a satelitní buňky.



Obrázek 4 – typy gliových buněk.

Převzato z Blausen.com staff: Medical gallery of Blausen Medical, 2014

2.5.1 Astrocyty

Astrocyty jsou gliové buňky hvězdicovitého tvaru nacházející se v celé CNS. Rozdělují se na astrocyty protoplazmatické, které nalezneme v šedé hmotě, a astrocyty fibrózní, které nalezneme v bílé hmotě (Sofroniew and Vinters 2010). Již při samotném vývoji nervové soustavy přispívají astrocyty ke správné migraci vyvíjejících se axonů vytvářením molekulárních gradientů (Powell and Geller 1999). Zastávají také celou řadu funkcí, které jsou pro správnou funkci nervové soustavy nezbytné – vytvářejí bariéru mezi mozkem a krví (BBB – blood brain barrier) a regulují krevní tok v CNS, zajišťují chemickou homeostázu a velkou část energetického metabolismu neuronů (Sofroniew and Vinters 2010).

2.5.2 Oligodendrocyty

Zásadní rolí oligodendrocytů je myelinizace buněk CNS. V periferní nervové soustavě (PNS) zastávají tuto funkci Schwannovy buňky (Brinkmann et al. 2008). Myelinizace je především postnatálně probíhající proces vytváření myelinové pochvy kolem axonů. Ta nejen zlepšuje vodivé vlastnosti axonů, ale také přispívá k jejich maturaci a regeneraci. Ztráta myelinu vede k různým tzv. demyelinizačním chorobám, z nichž známá je například roztroušená skleróza (From et al. 2014).

2.5.3 Ependymové buňky

Ependymové buňky tvoří výstelku mozkových komor a centrálního kanálu míchy. Anatomicky se podílí na struktuře choroidního plexu (plexus choroideus) a produkují mozkomíšni mok, filtrát krevní plazmy, jehož proudění v mozkových strukturách následně napomáhají (Kandel et al. 2013).

2.5.4 Mikroglie

Mikroglie jsou rezidentní makrofágy CNS, které zajišťují prvotní linii imunitního systému centrální nervové soustavy savců. Při běžném fyziologickém stavu mikroglie pouze „hlídkují“ – v případě jakéhokoliv poškození mozkové (a potažmo i míšní) tkáně však velmi rychle procházejí morfologickými i funkčními změnami vedoucími k jejich aktivaci. Zvláště markantní je jejich okamžitá aktivace při narušení BBB (Nimmerjahn, Kirchhoff and Helmchen 2005). Kromě prvotní imunitní odpovědi do určité míry přispívají i k udržení chemické homeostázy CNS struktur (Ginhoux et al. 2013).

V souvislosti s faktem, že mikroglie reagují na poškození nervové tkáně, se ukazuje, že mají významnou funkci i při patologických bolestivých stavech. Navzdory všeobecné představě, že bolestivé procesy jsou zajišťované pouze neurony samotnými, bylo zjištěno, že neuroimunitní změny zajišťované právě i mikroglie přispívají ke vzniku bolesti při poškození nervů (Hains and Waxman 2006). Těmto poznatkům se tato práce dále věnuje podrobněji.

3. Fyziologie nociceptivního systému

Přenos nociceptivního signálu začíná stimulací nociceptoru. Různé nociceptory nicméně reagují na různé podněty, ať už chemického, tepelného či mechanického rázu, a mají různé aktivační prahy (thresholdy). Ve fyziologii přenosu signálu dále figurují různé typy buněčných kanálů a neuropřenašečů (neurotransmitterů). Na takřka jakékoliv úrovni a součásti nociceptivního systému může docházet k rozvoji patologií a změně či úplné ztrátě jejich fyziologické funkce.

3.1 Nociceptory

Primární aferentní nervová zakončení myelinovaných axonů A i nemyelinovaných axonů C vycházejících z DRG vnímají stimuly okolního prostředí a následně je převádějí v elektrický signál – akční potenciál, který vedou ke zpracování do vyšších center v CNS (Cesare and McNaughton 1996). Stimuly okolního prostředí mohou být různého rázu:

3.1.1 Nociceptory aktivované teplotou

Nociceptory aktivované vysokou teplotou jsou ve své podstatě teplotně-senzitivní senzory – receptory reagující na teplotu tak vysokou, že by byla schopná poškození tkání. Jejich aktivační práh se proto pohybuje okolo 42 °C (Cesare and McNaughton 1996).

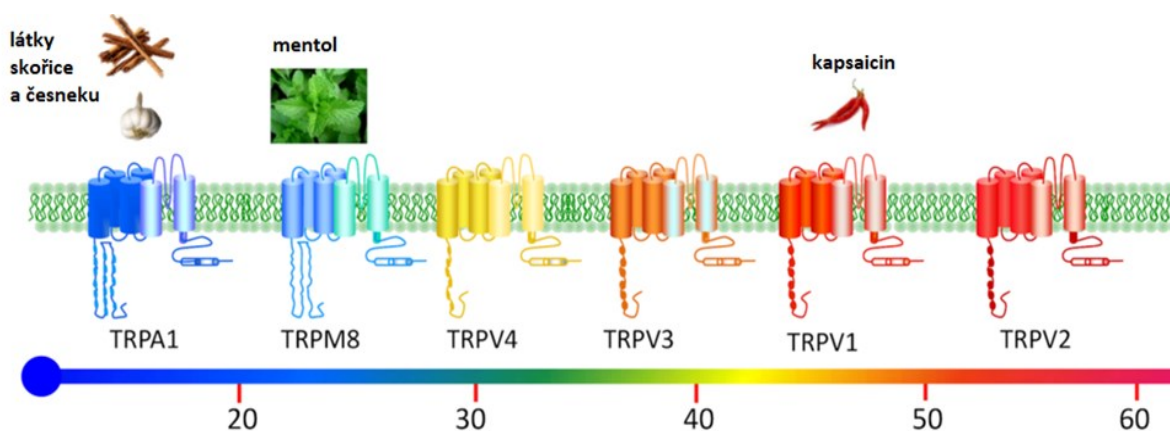
Výzkum tepelně aktivovaných nociceptorů se provádí především prostřednictvím kapsaicinu. Jedná se o látku přirozeně se vyskytující v chilli papričkách přidávanou do mnoha „pálivých“ jídel. Vystavení tohoto typu nociceptorů kapsaicinu vede k jejich excitaci, a tedy vzniku akčního potenciálu. To přirozeně vede člověka k pocitu teplem způsobené bolesti (Caterina et al. 1997).

Kapsaicinový výzkum odhalil, že aktivace nociceptorů reagujících na teplo probíhá především prostřednictvím vanilloidního receptoru **TRPV1** (někdy také označovaného VR1 nebo kapsaicinový receptor). Jedná se o tepelně aktivovaný (teplotní práh okolo 43 °C) neselektivní iontový kanál (Caterina et al. 1999). Kromě kapsaicinu a tepla ovšem TRPV1 reaguje i na přítomnost protonů. Bylo zjištěno, že i jen malé snížení extracelulárního pH způsobí pokles aktivačního prahu na hodnoty pokojových teplot (Tominaga et al. 1998).

Nedá se nicméně říct, že by TRPV1 byl jediným kanálem přímo zapojeným ve vnímání tepla a bolestivých stimulů z něj případně vycházejících. TRPV1 receptory patří do rodiny TRP (transient receptor potential family– viz Obr 5.), typicky tvořených tetramery s 6 transmembránovými doménami (Caterina et al. 1997).

Kromě TRPV1 reaguje na tepelné bolestivé stimuly i receptor **TRPV2** (někdy také označovaný jako VRL1, vanilloid receptor like 1). Aktivován je vyššími teplotami než jeho homolog TRPV1 (přes 52 °C), na chemické podněty (kapsaicin či protony) nereaguje (Ma 2001). Dále v teplem stimulovaných nociceptorech nacházíme i **TRPV3** receptory, jejichž teplotní senzitivita se pohybuje kolem 37 °C, tedy přibližně teploty tělesného jádra savců (Xu et al. 2002). Podobně je na tom i **TRPV4**

(označovaný též jako VR-OAC, vanilloid receptor-related osmotically active channel), který u savců též vykazuje největší senzitivitu kolem teploty tělesného jádra (Liedtke et al. 2000).



Obrázek 5 – typy TRP kanálů seřazené dle citlivosti na teplotu ve °C.

Převzato z Fernández-Carvajal, A.; Fernández-Ballester, G. et al.: *Addressing Thermoreceptors from Different Points of View. Pharmaceuticals 2012, upraveno.*

Kromě receptorů aktivovaných vysokými teplotami samozřejmě existují receptory aktivované teplotami dostatečně nízkými na vyvolání nociceptivního podnětu.

Typickým příkladem takového receptoru je **TRPM8** (někdy označovaný CMR1 – cold and menthol receptor) – další z rodiny TRP kanálů. Jeho aktivační práh se pohybuje okolo 23 °C a podobně jako se dá TRPV1 aktivovat kapsaicinem, dá se TRPM8 aktivovat chladivou látkou, mentolem (Peier et al. 2002). Na rozdíl od TRPV1 a TRPV2 kanálů je tento kanál aktivován i tepelnými podněty, které nemusí být vyhodnoceny jako bolestivé. (McKemy, Neuhausser and Julius 2002). Dalším z receptorů nociceptivního chladu u savců je například **TRPA1** (Kwan et al. 2006). Z toho je zřejmé, že rodina TRP kanálů je pro vnímání teploty u savců zcela zásadní.

3.1.2 Nociceptory aktivované mechanickým podnětem

Existuje celá škála receptorů aktivovaných mechanickým podnětem, ať už je jejich práh pro aktivaci nízký a reagují jen na jemný dotek, či vyšší reagující na větší tlak. Nociceptory jsou navíc často polymodální – odpovídají na více typů signálu, třeba na tepelné i mechanické. Co se mechanických nociceptorů týče, je výzkum podstatně nejistější než v případě tepelně aktivovaných (Hu, Milenkovic and Lewin 2006).

Kandidátním nociceptorem aktivovaným mechanickým podnětem je například **MEC-4 DEG/ENaC** kanál objevený a zkoumaný v modelovém organismu *C. elegans*. Jedná se o napěťově nezávislý Na⁺ kanál (O'Hagan, Chalfie and Goodman 2005). Dalšími kandidáty jsou, podobně jako u nociceptorů aktivovaných tepelnými podněty, kanály z TRP rodiny. Podle výzkumu mechanických stimulů prováděných na urologickém traktu se jmenovitě například TRPM8 či TRPA1 mohou účastnit přenosů nociceptivního signálu v této oblasti (Takeda et al. 2010, Kwan et al. 2006).

3.1.3 Nociceptory aktivované chemickým podnětem

Zdá se být poměrně logické, že i v tomto typu nociceptorů mají zásadní roli TRP kanály. Jak již bylo řečeno, kupříkladu TRPV1 může být aktivován kapsaicinem, podobně jako TRPM8 může být aktivován mentolem.

Velmi zajímavým kanálem je v tomto případě **TRPA1**, který jsou schopné aktivovat nejrůznější izothyokináty, thiosulfináty a α,β -nenasyčené aldehydy – látky přirozeně obsažené například v česneku, hořčici či skořici. Tyto chemikálie aktivují kanál kovalentní modifikací, čímž vzniká pocit bolesti (Hinman et al. 2006).

Možná ještě zajímavější je ale jistá promiskuita, s jakou různé chemikálie na TRP kanály působí. Mentol aktivující TRPM8 má inhibiční účinek na TRPA1, ale současně aktivující účinek na TRPV3 (Macpherson et al. 2006).

Nociceptory, podobně jako celá dráha přenosu bolesti, jsou plastické a jejich reakce na podněty lze modulovat. Na nociceptorech aktivovaných chemickými podněty se toto demonstruje nejlépe. Když je TRPV1 vystavován dlouhodobě účinkům kapsaicinu, snižuje se jeho sensitizace vůči této látce i jiným podnětům, na které by za normálních podmínek reagoval. Stejně tak působí na TRPV1 látka kafr, obsažená například v šalvěji lékařské, která má dokonce desensitizační účinky i na TRPA1. Podobně desensitizuje TRPM8 vystavení mentolu (Xu, Blair and Clapham 2005). Výzkum desensitizace a látek, které ji mohou způsobit, je samozřejmě zásadní, neboť může vést k vývinu vhodných analgetik – a ostatně vysvětluje analgetické účinky prostředků užívaných odpradáva v lidové medicíně.

Na druhou stranu, podobně jako mohou chemikálie bolestivé účinky tlumit, mohou je i zvyšovat – sensitizací receptorů, snížením jejich aktivačního prahu. Chemikálie tohoto rázu může tělo do blízkosti receptorů šířit i endogenně, například v reakci na zánět. Tento fenomén, ač též evolučně smysluplný a zajišťující ochranu tkání v tu chvíli již nějak poškozených, se velmi snadno může zvrhnout do patofyziologického. O tomto více v dalších částech.

3.2 Neurotransmitery

Přenos signálu z jednoho neuronu na druhý se děje přes synapsi. Synapse může být elektrického typu, kdy jsou presynaptická membrána jednoho neuronu a postsynaptická druhého těsně spojeny tzv. gap junctions. Může však být také chemického typu, kdy se mezi presynaptickou a postsynaptickou membránou nachází synaptická štěrbina.

Signál – akční potenciál – po svém příchodu na presynaptickou membránu tuto membránu depolarizuje. Tím dojde k otevření napěťově ovládaných vápenatých kanálů a influx Ca^{2+} do buňky způsobí exocytózu neurotransmiterů = jejich vylití do synaptické štěrbině (Kandel et al. 2013). Neurotransmitery jsou látky různých chemických podob, které se po svém vylití váží na specifické receptory na postsynaptické membráně. Tím způsobují aktivaci kanálů s těmito receptory spojenými – pokud se aktivují kanály pro kladné ionty (Ca^{2+} , Na^+), kdy se následně zvyšuje intracelulární

koncentrace těchto iontů a dochází k depolarizaci postsynaptické membrány, vzniká excitační postsynaptický potenciál (EPSP) a signál se tedy tímto neuronem šíří dál. Pokud naopak dochází k aktivaci kanálů pro Cl^- a membrána se hyperpolarizuje, vzniká inhibiční postsynaptický potenciál (IPSP). Signál se dále nešíří. (Kandel et al. 2013)

Prvním identifikovaným neurotransmiterem byl acetylcholin (ACh), a to již ve 20. letech 20. století. Zajišťuje přenos nervového signálu na všech neurosvalových ploténkách (a tedy je zásadní pro vůli ovládané svalstvo), ale podílí se i na procesech modulace nálad či tlumení bolesti. Váže se na dva typy receptorů: muskarinové a nikotinové (Kandel et al. 2013).

Existuje celá další řada neurotransmiterů a dalších neuroaktivních látek podílejících se na přenosu či modulaci nervového signálu. Tato práce se věnuje pouze nejzákladnějším neurotransmiterům (a jejich receptorům) důležitým pro nociceptivní přenos.

3.2.1 Excitační neurotransmitery

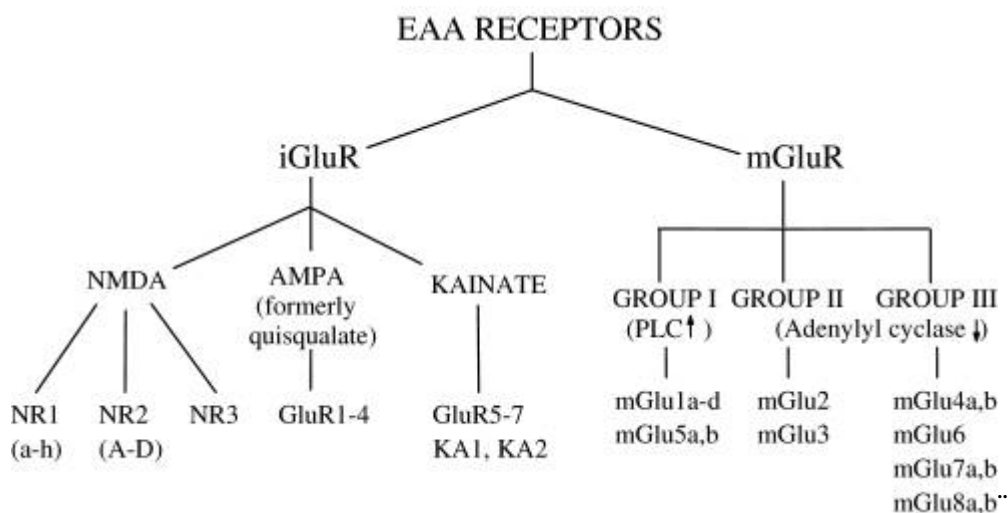
Tyto látky zvyšují pravděpodobnost generace akčního potenciálu v postsynaptické buňce, čímž podporují šíření informace dál. Pokud se bavíme o nociceptivním přenosu, dají se také označit jako pronociceptivní.

Hlavním excitačním neurotransmiterem je **glutamát** (Glu – produkován na bezmála polovině mozkových synapsí), **aspartát** (Asp) a jim podobné aminokyseliny, souhrnně označované jako **EAA** (excitatory amino acids) (Millan 1999).

Tyto látky se váží na receptory rozdělované na ionotropní (iGluR) a metabotropní (mGluR), jak dobře ilustruje schéma (viz obr 6.).

Ionotropní GluR jsou pojmenované dle svých selektivních agonistů. Někdy jsou také rozdělovány na NMDA receptory a non-NMDA receptory (Keinänen et al. 1990)

NMDA receptory (N-methyl-D-aspartate receptor) jsou jedny z ligandy otevíraných iontových kanálů. K jejich aktivaci (a tedy otevření) je zapotřebí navázání glutamátu a glycinu, kromě toho však u nich dochází i k navázání Mg^{2+} iontů uvolněných depolarizací buněčné membrány. Jejich aktivace vede k influxu Ca^{2+} iontů a dalších kationtů do buňky, což vede ke spuštění signálních kaskád – spolu s tím, jak poměrně pomalou kinetiku NMDA receptory mají (jak dlouho trvá jejich deaktivace po aktivaci navázáním ligandů) je tato skupina kanálů zásadní pro vznik EPSP (Furukawa et al. 2005).



Obrázek 6 – rozdělení EAA receptorů.

Převzato z Watkins, J. C., & Jane, D. E.: *The glutamate story. British journal of pharmacology*, 2006

AMPA receptor (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor) jsou dalšími z iontových kanálů otevíraných ligandy. Agonista AMPA vyvolává podobnou receptorovou odpověď jako navázání glutamátu – rychlou, s rychlou desenzitizací. Kromě těchto dvou ligandů je částečným agonistou i kainát, jeho navázání však u receptoru nevyvolává tak velkou aktivitu a desenzitizace přichází ještě rychleji (Armstrong and Gouaux 2000).

Kainátové receptory lze též aktivovat kainátem, mají k němu však tisíckrát vyšší afinitu než AMPA receptory. Výzkum se soustředí především na jejich presynaptický a postsynaptický význam v hipokampu (Mayer 2005).

Metabotropní GluR se dělí do tří skupin. Skupina I jsou G-proteiny, spojené s fosfolipázou C a IP_3 (1,4,5-inositol triphosphate), jejichž prostřednictvím aktivuje výlev intracelulárního Ca^{2+} . Aktivace těchto receptorů také vede k produkci DAG (diacylglycerol) a zvýšené aktivitě proteinkinázy C, což vede ke vzniku LTP – long term potentiation (Vickery, Morris and Bindman 1997). Vznik LTP je zásadní pro vznik přetrvávající (chronické) bolesti.

Skupina II, kam patří mGluR2 mGluR3, může také presynapticky snižovat aktivitu NMDA receptorů a zvyšovat tak riziko excitotoxicity. Skupina III (mGluR4, 6, 7, 8) může také prostřednictvím inhibice adenylát cyklázy modulovat nociceptivní přenos.

Dalším z pronociceptivních neurotransmiterů jsou neuropeptidy z řady tachykinů **substance P** a **neurokinin A** (Gamse, Molnar and Lembeck 1979, Sakurada et al. 1990). Mezi jejich hlavní receptory patří **NK1** a **NK2** – neurokinin receptory 1 a 2.

3.2.2 Inhibiční neurotransmitery

Tak jako jsou excitační neurotransmitery zásadní pro vznik EPSP, jsou inhibiční zásadní pro vznik **IPSP** – inhibičního postsynaptického potenciálu, který snižuje pravděpodobnost, že na postsynaptickém neuronu vznikne akční potenciál.

Hlavními inhibičními neurotransmitery v míše jsou **GABA** (gama-aminomáselná kyselina) a **glycin** (Gly) (Yoshimura and Nishi 1995).

Zajímavé je, že se **GABA** při vývoji nervové soustavy chová jako excitační neurotransmiter – depolarizací buněčných membrán způsobuje vznik akčního potenciálu – zatímco teprve postupně získá svou inhibiční funkci a membrány hyperpolarizuje (Ganguly et al. 2001). Hlavními receptory GABA v dorzálním rohu míšním jsou **GABA_A** a **GABA_B** (Castro-Lopes et al. 1995). **GABA_A** patří například právě spolu s glycinovým receptorem (**GlyR**) do superrodiny Cys-loop ligandy otevíraných iontových kanálů (jedná se tedy o ionotropní receptor, podobně jako tomu bylo u iGluR). V případě **GABA_A** i GlyR se jedná o pentamerové receptory, které v případě aktivace otevřou iontový kanál pro průchod negativně nabitých iontů (Campagna-Slater and Weaver 2007). **GABA_B** je metabotropní receptor spojený s G-proteiny, opět ne nepodobně jako je tomu u mGluR (Kaupmann et al. 1997).

Glycin byl již zmíněn jako nezbytný ligand pro aktivaci glutamátových NMDA receptorů, kromě toho se však také jedná i o inhibiční neurotransmiter.

4. Patofyziologie

Kromě neurotransmiterů hrají velkou roli v ovlivňování mechanismu vzniku bolestivého pocitu i neuromodulátory a další látky a enzymy (typicky například cyklooxygenáza 2 – COX-2) či dokonce buněčné komponenty, jako jsou například žírné buňky či makrofágy. **Neuromodulátory** jsou chemikálie ovlivňující celé populace neuronů spouštěním signalizačních kaskád. Právě výlev neuromodulátorů při poškození tkáně může velmi úzce souviset s patofyziologickými bolestivými procesy.

4.1 Zánět a mechanismy periferní sensitizace

Typickým příkladem je tzv. **inflammatory soup** (IS) – „zánětlivá polévka“. Jedná se o skupinu pronociceptivních mediátorů, označovaných jako IM – **inflammatory mediators**, jejichž výlev do okolí primárních aferentních nociceptorů klasicky nastává při zánětu.

Patří mezi ně například bradykinin (BK), serotonin (5-hydroxytryptamine – 5-HT), histamin (HIS) a prostaglandiny (PGE) – typicky PGE₁ a PGE₂. Tyto látky velmi ovlivňují aktivační prahy nejrůznějších nociceptorů a typicky vedou k periferní sensitizaci, či dokonce přímo aktivují různé nociceptory (Steen et al. 1996). Podobně na primárních aferentních vláknech působí například i NGF (nerve growth factor) (Shu and Mendell 1999) či ATP (adenosin trifosfát), které podobně jako bradykinin aktivují fosfolipázu C (PLC) a následně proteinkinázu C (PKC), což vede k sensitizaci TRPV1 (Zhang et al. 2005). Dále se zánětlivých procesů účastní i různé **chemokiny**, kupříkladu CCL3 (Zhang et al. 2005) a **cytokiny**.

Chemokiny jsou skupina asi 50 malých (70–100 aminokyselin) navzájem příbuzných proteinů, jejichž hlavní úlohou je chemické navádění leukocytů. Ukazuje se však, že hrají velkou roli i v zánětlivých procesech. Rozdělují se na čtyři hlavní rodiny podle uspořádání konzervativních cysteinových zbytků – rozlišujeme rodiny CC, CXC, XC a CX₃C (Gao and Ji 2010). Chemokiny se váží na povrchové receptory GPCRs – sedmkrát transmembránové proteiny spřažené s G-proteiny, které typicky v buňce aktivují signalizační kaskády. Většina chemokinů je vůči receptorům promiskuitní a naopak; výjimku tvoří například chemokin CX₃CL1 a jeho příslušný receptor CX₃CR1. Ohromná část chemokinových receptorů je exprimována v CNS – jak v neuronech, tak v astrocytech a mikroglíích. Chemokiny se považují za velmi důležité ve zprostředkovávání interakce mezi neurony a gliovými buňkami (Gao and Ji 2010).

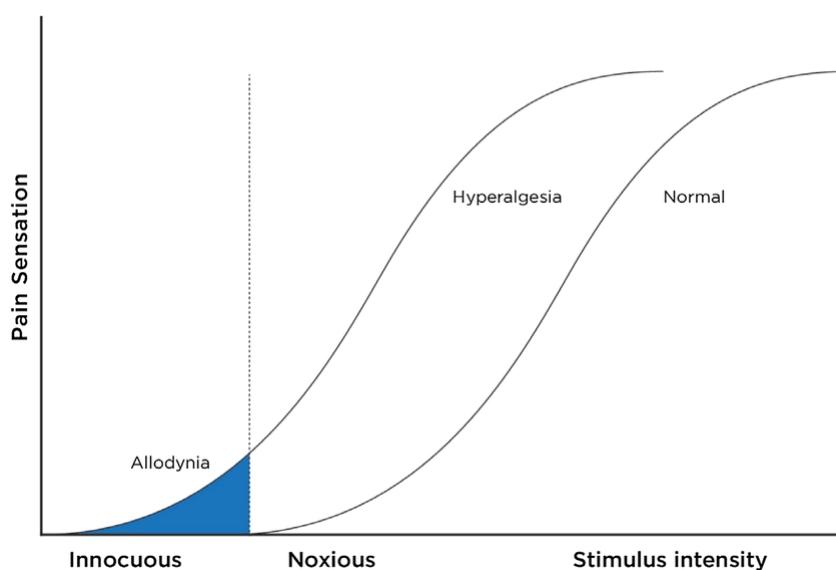
Cytokiny jsou extracelulární signální peptidy (podobně jako hormony) velmi významné v imunitě. Zahrnují nejrůznější interleukiny (jejichž pojmenování doslova vychází z přenášení informací mezi leukocyty), ale i látky typu TNF- α (tumor necrosis factor- α) či TGF- β (transforming growth factor- β). Cytokiny mohou stimulovat proliferaci leukocytů, syntézu prostaglandinů a například zvýšení teploty – nejrůznější mechanismy důležité pro zánětlivé procesy (Cannon 2000).

Změnou chemického prostředí v okolí neuronů při zánětu dochází k procesům známým jako allodynie a hyperalgesie – patologickým bolestivým vjemům. Silně k tomu přispívá i acidifikace – nízké pH v okolí nociceptorů (Steen et al. 1992). Ostatně, jak bylo řečeno, TRPV1 na změny pH reaguje velmi citlivě.

Allodynie znamená vyvolání bolestivého vjemu podnětem, který normálně není bolestivý.

Hyperalgesie znamená zvýšenou citlivost k bolestivým podnětům. Podnět, který by za normálních okolností byl bolestivý jen málo, způsobuje při zánětu vlivem IM bolest větší.

Bylo zjištěno, že za tepelnou hyperalgesii je zodpovědný především TRPV1 (Davis et al. 2000) a TRPV4 (Chen, Alessandri-Haber and Levine 2007). Jak hyperalgesie, tak allodynie mohou být způsobeny nejen periferními, ale také centrálními mechanismy, jak bude ještě zmíněno u neuropatické bolesti.



Obrázek 7 – grafické znázornění allodynie a hyperalgesie.

Převzato z Louw, Adriaan & Puentedura, Emilio & Nijs, Jo.: A clinical perspective on a Pain Neuroscience Education approach to Manual Therapy, 2017

4.2 Chronická bolest

Chronická bolest je bolest přetrvávající dlouhou dobu, déle než 3 měsíce. Podle 11. vydání International Classification of Diseases (ICD), které vydává světová zdravotnická organizace WHO a na kterém spolupracovala IASP Task Force, se dá chronická bolest rozdělit do 7 hlavních kategorií, které mohou pramenit z místa, ve kterém je bolest vnímaná, z etiologie (původu) bolesti či z primárně zasažené anatomické soustavy. Není to však tak, že by kategorie byly výlučné – naopak se velmi často stává, že určitý typ bolesti sice patří pod jednu hlavní kategorii, ale dá se zařadit do vícera z nich (Treede et al. 2015).

Rozlišujeme tedy tyto kategorie:

4.2.1 Primární chronická bolest

Primární chronická bolest je bolest trvající déle než 3 měsíce, která způsobuje výraznou emoční nepohodu či narušení v činnostech běžného života. Jedná se o bolest, která se nedá vhodněji zařadit pod žádnou z dalších kategorií, ať už pro šíři jejího působení či pro její ne zcela známou příčinu. Typicky sem patří chronická bolest zad, fibromyalgie či syndrom dráždivého tračníku (IBS – irritable bowel syndrome) (Treede et al. 2015).

Fibromyalgie je onemocnění s odhadovanou světovou prevalencí okolo 2-3 %. Bývá řazena mezi revmatoidní onemocnění. Jejími hlavními příznaky je bolest tkání, která může působit takřka po celém těle – lokalizace se hodně odvíjí od komorbidit, kterými může být například obezita. Provází ji silná únava a poruchy spánku. K fyzickým příznakům se často přidávají i psychické, jako jsou deprese či úzkosti (Sarzi-Puttini et al. 2020).

IBS se projevuje chronickou bolestí břicha, která může být spojená s problémy se stolicí a nedá se vysvětlit žádnou fyzickou příčinou. Světová prevalence se velmi různí v různých oblastech, největší je v Jižní Americe (až 21 % populace). Více IBS trpí ženy (Lovell and Ford 2012).

4.2.2 Chronická bolest spojená s rakovinou

V tomto případě může být bolest způsobená přímo rakovinným onemocněním či v menší míře případů jeho léčbou. Taková bolest navíc může být různé intenzity i povahy, může dále spadat například pod charakteristiky bolesti viscerální nebo neuropatické. Většinou se řeší opioidy (Caraceni, Portenoy and Pain 1999).

4.2.3 Chronická pooperační a posttraumatická bolest

Do této skupiny se řadí bolesti přetrvávající déle než 3 měsíce po operaci či po nějakém traumatu (zranění, včetně například popálenin), která není spojena s běžným hojením ani se nedá zařadit „snadněji“ pod jinou kategorii – není tedy například způsobována infekcí či dříve existujícím faktorem k bolesti napomáhajícím. Z velké části se jedná o neuropatické bolesti (Treede et al. 2015).

4.2.4 Chronická neuropatická bolest

Neuropatická bolest je bolest způsobená poškozením somatosenzorického nervstva. Nervstvo může poškodit léze či onemocnění, pro diagnostikování bolesti jako neuropatické je důkaz tohoto poškození nezbytný – je potřeba, aby kromě příznaků s neuropatickou bolestí spojených (jako jsou například allodynie) bylo přítomno i předcházející prokazatelné poškození nervového systému, ať už způsobené geneticky, náhlým zraněním (například cévní mozkovou příhodou) či chronickým onemocněním (například diabetes mellitus) (Merskey H 1979). Více o neuropatické bolesti v další části.

4.2.5 Chronické bolesti hlavy a orofaciální

Bolesti v oblasti úst a obličeje, které se vyskytují v nejméně polovině dnů po dobu tří měsíců. Nejčastěji se jedná o temporomandibulární poruchy – poruchy spojené s čelistním kloubem (Treede et al. 2015).

4.2.6 Chronická viscerální bolest

Chronická viscerální bolest je dlouhodobě trvajícím nebo se vracejícím bolestí vnitřních orgánů a útvarů krku, hlavy a dutiny hrudní, břišní či pánevní. Tato bolest může vycházet z podnětů mechanických (jako je například kontrakce hladké svaloviny ve stěnách orgánů), tak jiných; může ji způsobovat například infekce. Viscerální bolest se může projevovat jako bolest projikovaná – bolest vycházející původně z vnitřních orgánů se projevuje přecitlivělostí na dotyk na kůži, v oblastech známých jako Headovy zóny. Jedná se o oblasti inervované míšním nervem, do jehož míšního segmentu ústí i sensitivní vlákna orgánu (Treede et al. 2015, Čihák 2004).

Velmi známým příkladem projikované bolesti je bolest hrudi a levé ruky při infarktu myokardu. Zajímavým příkladem je také Kehrův příznak – bolest především v oblasti levé lopatky způsobená rupturou sleziny, kdy je nervus phrenicus vedoucí do vazivového pouzdra sleziny drážděn kapající krví.

4.2.7 Chronická bolest svalů a skeletu

Bolesti této sekce se podle svého původu často řadí spíše pod neuropatickou bolest. Jedná se o bolest kostí, kloubů, svalů a s nimi spojených měkkých tkání. Řadí se sem například bolesti způsobené revmatoidní artritidou či osteoartrózou (Treede et al. 2015).

Chronická bolest se dá také dělit podle mechanismu vzniku, a to na **nociceptivní** (jejíž mechanismy jsou popsány v 3.3.1) a **neuropatickou**.

4.3 Neuropatická bolest

Jak již bylo řečeno, příčinou neuropatické bolesti je poškození nervstva; mechanismus vzniku se od „běžné“ nociceptivní bolesti – způsobené bolestivými podněty aktivujícími primární nociceptory – odlišuje.

Prevalence chronické bolesti s neuropatickým mechanismem se v populaci pohybuje okolo **7-8 %** (Bouhassira et al. 2008). Kromě obrovské zátěže pro osoby takovou bolestí trpící představuje neuropatická bolest i velkou zátěž pro ekonomiku. K obtížím v běžném životě se přidávají obtíže

v životě pracovním, častější návštěvy lékařů a častější předepisování léčiv (Schaefer et al. 2014). Situace je však o to komplikovanější, že léčba neuropatické bolesti není jednoduchá. Užívaná léčiva často nemají dostatečnou účinnost, či jsou naopak příliš silná, než aby mohla být dlouhodobě užívána (Themistocleous et al. 2018).

Allodynie i hyperalgesie jsou zcela typickými příznaky, které neuropatickou bolest provází. Často jsou přítomné zánětlivé mechanismy – zánětlivý efekt vyvolávají degenerující neurony v místě poškození. Může také docházet ke spontánní aktivaci nociceptorů (tzv. ektopické aktivitě) především u C vláken, a tím spontánním pocitům bolesti popisovaným jako palčivé, bodavé (Djoughri et al. 2006).

Neuropatická bolest jako taková je velmi diverzní. Liší se vlastní intenzitou bolesti, ale i svou příčinou (poškození nervů úrazem, chronickým onemocněním, virově...) či lokalizací poškození nervů (poškození periferního nervstva vs poškození centrální). Je tedy na místě uvést několik příkladů chronické neuropatické bolesti, které lépe ilustrují diverzitu celého tohoto termínu.

Diabetická neuropatická bolest (DNP): Diabetes mellitus je jednou z nejčastějších příčin neuropatie vůbec. Mechanismy vzniku neuropatie při diabetu nejsou stále zcela pochopené, ač se předpokládá, že na vině jsou z velké části toxické účinky hyperglykemie. Nejčastěji se u diabetiků objevuje distální symetrická polyneuropatie (DSPN) postihující nejdříve prsty u nohou, ale následně se rozšiřující do chodidel i výše v nohách. Ne vždy musí DSPN provázet neuropatická bolest v těchto oblastech – ta se vyskytuje u 10 až 26 % případů. Když je však přítomna, může být i velmi závažná. Zhoršuje se v noci, a výrazně tak narušuje kvalitu života (Schreiber et al. 2015).

Postherpetická neuralgie je nejrozšířenějším případem neuropatické bolesti jako následku infekce. Způsobuje ji varicella zoster virus (VZV) – vir, který u lidí typicky způsobuje plané neštovice, a po své reaktivaci z latentní formy také pásový opar. Právě po pásovém oparu (herpes zoster), kdy jsou virem napadeny periferní senzorké nervy, může dojít k neuropatické bolesti. Až 15 % postherpetických pacientů zažívá bolest ještě dva roky po infekci. Náchylnost k postherpetické neuralgii se zvyšuje s rostoucím věkem, což koreluje se zvyšováním náchylnosti k pásovému oparu samotnému (Johnson and Rice 2014).

Neuropatická bolest u pacientů se syndromem karpálního tunelu je nejrozšířenějším příkladem postižení periferních nervů vůbec. Způsobuje ho útlak nervu medianu v zápěstí, nejčastěji v dominantní ruce. Většinou se objevuje při dlouhodobém, nadměrném a monotónním přetížení ruky, typicky při výkonu nějakého manuálního povolání. Projevuje se brněním a pálením v prstech a zápěstí. Podle studie z roku 2014 se neuropatická bolest projevuje zhruba u 10 % pacientů se syndromem karpálního tunelu – u dalších zhruba 20 % je její výskyt pravděpodobný (Sonohata et al. 2014).

Thalamická bolest: Tak jako může neuropatická bolest vznikat postižením periferních nervů – ať už dlouhodobým onemocněním typu diabetes mellitus, infekcí typu pásového oparu či mechanicky jako je tomu u syndromu karpálního tunelu – může vznikat i postižením centrální nervové soustavy. Kromě poškození míchy, které neuropatická bolest také typicky provází a jehož mechanismy jsou

zásadní pro kapitolu 5 této práce, může docházet k poškozením i na místech integrace bolesti – tedy v mozku.

Nejznámějším případem bolesti vycházející z takového poškození je thalamická bolest. Patří pod širší skupinu bolestí označovaných jako **CPSP – central post-stroke pain** (centrální bolest po mrtvici), které se mohou rozvinout následkem utlačení mozkové tkáně, typicky po mrtvici spojené s krvácením. Při takové neuropatické bolesti je poškozen thalamus, zásadní místo integrace bolestivých nervových signálů. Pocity bolesti bývají velmi často provázeny silnou dotekovou allodynii – bolest vyvolává pouhý kontakt s oblečením, s poryvy vzduchu. Thalamická bolest následně velmi komplikuje zotavování se z mozkové příhody, narušuje spánek, může vést k sebepoškozování či v extrémních případech dokonce k sebevraždě (Klit, Finnerup and Jensen 2009, Flaster et al. 2013).

Kromě mechanismů periferní sensitizace a zánětu jsou pro neuropatickou bolest zcela zásadní mechanismy centrální sensitizace, které ji typicky provázejí a které jsou více popsány v další části práce.

5. Role gliových buněk v modulaci nociceptivního přenosu na míšní úrovni

Nociceptivní signál je na své dráze z místa svého vzniku – periferního zakončení primárního aferentního nociceptoru, který informaci detekuje – do místa svého zpracování v mozkových centrech – ovlivňován obrovským množstvím různých fyziologických komponent. Přenos bolesti proto může být modulován jak na periferiích, tak na centrální úrovni. Právě v míše, kde je sensitizace jedním z nejzásadnějších mechanismů provázejících neuropatickou bolest, je klíčová role mikroglíí a dalších gliových buněk.

5.1. Centrální sensitizace

Jak bylo již řečeno v anatomické části této práce, těla somatických nociceptorů jsou umístěna v DRG. Jejich periferní zakončení vedou do různých oblastí kůže, jejich centrální zakončení vedou do dorsálního míšního rohu. V dorsálním míšním rohu následně dochází k prvnímu synaptickému přenosu signálu – z primárních aferentních neuronů na v pořadí druhé neurony přenášející bolest. Tento synaptický přenos je zásadní, neboť právě zde dochází k „součtu“ EPSP a IPSP, a zde tedy lze signál buď amplifikovat, nebo inhibovat, především aktivitou inhibičních interneuronů (Latremoliere and Woolf 2009). Amplifikace signálu především zvýšením influxu Ca^{2+} v postsynaptických neuronech vcelku logicky stojí za projevy hyperalgesie a allodynie (Basbaum et al. 2009). Dochází k centrální sensitizaci – kdy vnímaný pocit bolesti najednou nemusí být nutně adekvátní nociceptivnímu podnětu na periferii či s ním být vůbec spojen. Vnímání bolesti je zvýšené nikoliv pro zesílenou aktivitu nociceptorů, ale pro stupňující se citlivost neuronů integrujících signály od těchto receptorů.

Bylo zjištěno, že jednu ze zásadních rolí v tomto procesu mají **NMDA receptory** (Haley, Sullivan and Dickenson 1990). Po zranění periferních nervů, a tedy při neuropatické bolesti, lze snížit projevy mechanické i termální allodynie užitím antagonistů NMDA receptorů (Kim et al. 1997).

Podobně jsou s hyperalgesií následující po zranění periferních nervů asociované i **NK1 receptory** (Thompson, Dray and Urban 1994, Torsney and MacDermott 2006).

Zmíněné **inhibiční interneurony bývají GABAergní či glycinergní**. Bylo zjištěno, že antagonisté $GABA_A$ a $GABA_B$ receptorů způsobují hyperalgesii i allodynii – snížení aktivity GABA na míšní úrovni signifikantně zvyšuje aktivační prahy mechanických i termálních nociceptorů (Malan, Mata and Porreca 2002).

Bylo již zmíněno, že při zánětlivých procesech se uvolňuje velké množství neuromodulátorů, včetně například **prostaglandinu E₂** (PGE_2). PGE_2 je kromě jiného zodpovědný i za potlačení glycinergní inhibice v dorsálních rozích míchy prostřednictvím signalizační kaskády, která vede k inhibici zásadní podjednotky glycinových receptorů (Harvey et al. 2004). Je zřejmé, že inhibiční interneurony jsou pro tlumení přicházejících bolestivých signálů na míšní úrovni zásadní.

5.2 Role mikroglíí v nocicepci

Mikroglie jsou rezidentní makrofágy nervové soustavy. Mikroglální aktivace je silně zapojena do neurodegeneračních procesů v celé CNS. Stále více důkazů však také naznačuje jejich důležitou roli na míšní úrovni v genuzi chronických bolestivých stavů – a to uvolňováním prozánětlivých cytokinů. Význam mikroglálních mediátorů je velmi významný zejména při regulaci synaptické plasticity excitačních a inhibičních neuronálních okruhů v míše, což většinou v důsledku vede ke zvýšenému vnímání bolesti. Další výzkum interakcí mezi neurony a mikroglie v zadním rohu míšním nejen podpoří naše chápání nervové plasticity, ale může také vést k novým metodám pro zvládnutí chronické bolesti.

Při poškození periferních nervů mikroglie velmi rychle přecházejí z klidového stavu do stavu aktivovaného a proliferyjí a migrují k místu poškození nebo zvýšené neuronální aktivity – k centrálním zakončením poškozených primárních aferentních vláken z periferií. Je prokázáno že svým působením a přítomností ovlivňují přenos nociceptivního signálu na míšní úrovni v souvislosti s neuropatickou bolestí (Beggs and Salter 2007). Bylo také potvrzeno, že aktivované mikroglie přispívají k rozvoji i působení mechanické hyperalgesie (Clark et al. 2007).

Podobnou roli mají mikroglie i při poškození centrální nervové soustavy. Bylo zjištěno, že při zranění míchy dochází k chronické aktivaci mikroglíí, která následně přispívá k neúměrně vysoké reaktivitě neuronů na stimuly a k pocitům bolesti (Hains and Waxman 2006). Je nutné poznamenat, že neuronální aktivitu ovlivňují při přenosu nociceptivních signálů i astrocyty – na ty se nicméně tato práce nesoustředí.

5.2.1 Mikroglie v klidovém stavu

I za běžných – fyziologických stavů jsou mikroglie velmi dynamickými buňkami. Ač somata mikroglíí většinu času zůstávají na stejném místě, jejich buněčné výběžky vykazují intenzivní pohyb. Natahují se do mezibuněčného prostoru kolem sebe, dotýkají se přímo ostatních buněčných elementů (neuronů, astrocytů, cév). Při kontaktu s výběžky jiné gliové buňky se jednotlivé výběžky odpuzují – zdá se, že každá mikroglie má své „teritorium“, prostředí, které důkladně kontroluje a přispívá k udržení jeho homeostázy, například pohlcováním metabolitů (Nimmerjahn et al. 2005). Mikroglie neustále a dynamicky zkoumají své prostředí a interagují s blízkými synapsami (Nimmerjahn et al. 2005). Je pozoruhodné, že tyto procesy jsou řízeny neuronovou aktivitou, kdy mikroglie mohou současně interagovat s presynaptickými i postsynaptickými neurony (Wake et al. 2009). To naznačuje, že mikroglie formují neuronální obvody a že periodické interakce mezi mikroglie a synapsami existují při absenci patologie. Tyto interakce mohou být však narušeny po poranění nervového systému nebo nemoci. Fyziologickou roli mikroglíí při přenosu bolesti na míšní úrovni je však třeba ještě dále zkoumat. Při zranění, lézi (například při porušení BBB) se z neuspořádaného pohybu gliových výběžků stává cílený. Mikroglie se svými výběžky pohybují k poškození (Nimmerjahn et al. 2005), a dochází k jejich aktivaci.

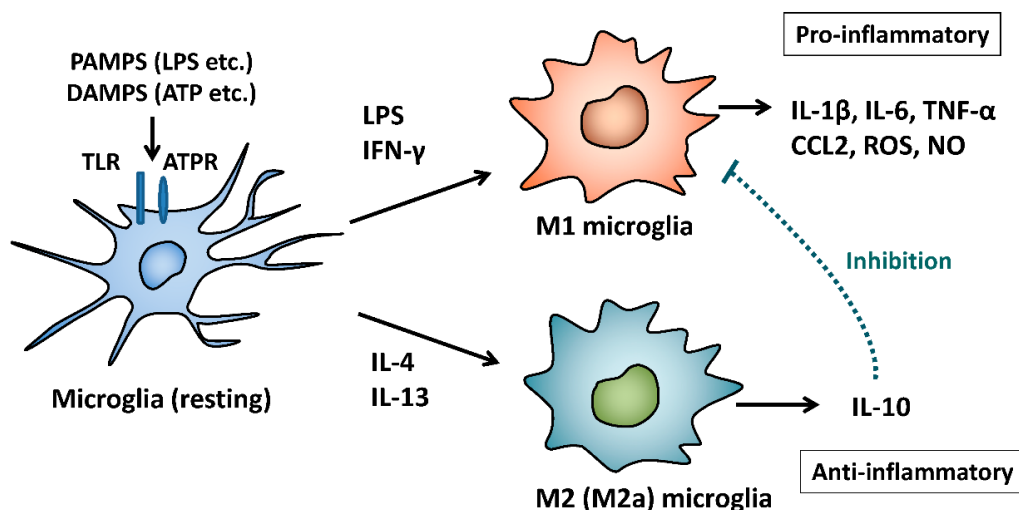
5.2.2 Aktivace mikroglíí

Za patologických podmínek, zejména za podmínek po poranění nervů, mikroglie procházejí takzvanou „mikroglíózou“, což je komplexní soubor změn, které umožňují buňce rychle reagovat a vykonávat širokou škálu funkcí, jako je ochrana míst poranění, fagocytóza poškozených buněk a uvolňování zánětlivých signálů k zahájení dalších akcí jako je například imunitní odpověď. Mikroglíóza je určena změnou morfologie – z rozvětveného na améboidní tvar (Streit, Walter and Pennell 1999).

Nedávné studie zjistily, že mikroglie, stejně jako periferní makrofágy, jsou schopné odlišných funkčních stavů označovaných jako klasická nebo alternativní aktivace. Mikroglie lze aktivovat dvěma způsoby, z nichž každý vede k diferenciaci mikroglíí na jiný aktivovaný typ (Obrázek 9.). Rozlišujeme tedy typ M1 – „klasicky aktivovaný“, podporující zánět – a typ M2, „alternativně aktivovaný“, protizánětlivý (Kigerl et al. 2009).

Diferenciaci do typu M1 podněcují především prozánětlivé látky (viz část o zánětu). Jedná se například o zánětlivé cytokiny (IFN- β , IL-6, TNF- α , IL-1 β), chemokiny a jejich receptory (CCL2 a CCR2) (Kobiela Ketz et al. 2017). Kromě toho, že však tyto látky vedou k aktivaci do M1 typu, dochází následně také k uvolňování některých z nich právě tímto buněčným typem. M1 mikroglie prokazatelně produkují EAA, IL-1 β a prostaglandin E2 – látky, které navíc přispívají k sensitizaci – podobně jako i COX-2 či iNOS (inducible nitric oxide synthase). Dochází tedy k jakémusi cyklu, kdy zánětlivé mediátory aktivují mikroglie a následně jsou jimi samotnými produkovány. Tento cyklus může do jisté míry vysvětlovat princip chronické bolesti po zranění CNS (Hains and Waxman 2006).

Typ M2 oproti tomu aktivují cytokiny – interleukiny jako jsou IL-4 či IL-13. Takto diferencované mikroglie následně produkují protizánětlivé cytokiny (IL-10, TGF- β), podporují hojení a zprostředkovávají fagocytózu (Kigerl et al. 2009).



Obrázek 8 – Ilustrace morfologických i fyziologických změn provázejících aktivaci mikroglíí.

Převzato z Nakagawa, Y.; Chiba, K. Role of Microglial M1/M2 Polarization in Relapse and Remission of Psychiatric Disorders and Diseases. Pharmaceuticals, 2014.

5.2.3 Zásadní signální molekuly aktivovaných mikroglíí

Aktivace mikroglíí se projevuje nejen morfologickými změnami a produkcí zánětlivých či protizánětlivých látek. Pro aktivované mikroglie jsou typické především jisté signální molekuly. Bylo zjištěno, že **p38**, jedna z mitogeny-aktivovaných protein kináz (**MAPK** – jedná se o signální molekuly převádějící extracelulární signály na intracelulární odpovědi), je při poškození PNS aktivována v mikroglíích dorsálního rohu a přispívá tak ke vzniku neuropatické bolesti. Při podání inhibitoru p38 a následném modelování neuropatické bolesti ligací míšního nervu (SNL – spinal nerve ligation) u myši byla snížena hypersensitivita s neuropatickou bolestí spojená (Jin et al. 2003). S aktivací p38 úzce souvisí i aktivace kináz rodiny **Src (SFks – Src family kinases)**. Src kinázy způsobují v pozdních fázích neuropatie další aktivaci p38, čímž přispívají k dlouhotrvající hyperalgesii (Tan et al. 2012). Další z kináz aktivovaných v míšních mikroglíích je **ERK** (extracellular signal-regulated kinase). Podobně jako p38 je aktivována především v brzkých fázích nervového poškození. Při její inhibici dochází ke snížení mechanické allodynii (Zhuang et al. 2005).

5.2.4 Interakce mezi neurony a mikroglíemi

Při patologických stavech nervové soustavy dochází k ovlivnění přenosu nociceptivní informace a může dojít ke stavu neuropatické bolesti. Mikroglie k tomuto stavu mohou přispívat i dalšími způsoby kromě již zmíněných.

Jeden z nich působí prostřednictvím **P2X4 receptorů**. Jedná se o ionotropní ATP receptory, které jsou při poškození nervů hojně exprimovány v aktivovaných mikroglíích (nikoliv však v neuronech) a které přispívají k dotekové allodynii (Tsuda et al. 2003). Aktivací P2X4 receptorů dochází ke zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} a prostřednictvím aktivace p38 kinázy je následně způsobeno vylíčení BDNF (brain-derived neurotrophic factor) (Trang et al. 2009). Ten naruší homeostázu Cl^- v neuronech míšní laminy I – čímž se nejen zhoršuje možnost inhibice prostřednictvím například GABA, ale dochází i k nadhodnocení slabých signálů za nociceptivní (Keller et al. 2007).

Dalším způsobem je interakce prostřednictvím chemokinu **CX₃CL1, neboli fraktalkinu (FKN)** a jeho příslušného receptoru **CX₃CR1**. CX₃CR1 je v CNS exprimován pouze v mikroglíích. FKN a jeho receptor mají mezi sebou zcela uzavřený vztah – CX₃CR1 nelze aktivovat ničím jiným než fraktalkinem, a opačně fraktalkin neaktivuje žádný jiný chemokinový receptor. Vzhledem k této jedinečnosti „zámku a klíče“ a faktu, že FKN je produkován neurony, se jedná o zcela specifický mechanismus interakce mezi neurony a mikroglíemi. FKN existuje ve dvou formách; membránové a rozpustné (sFKN), z nichž každá má své specifické funkce (Montague-Cardoso, Mrozkova and Malcangio 2020). Při poškození nervů dochází k nárůstu exprese jak FKN v neuronech, tak CX₃CR1 v mikroglíích. Navázání FKN na receptor vede k fosforylaci, a tudíž aktivaci p-38 kinázy a již vysvětlované signální dráze, která přispívá k neuropatické bolesti. Knock-out myši bez CX₃CR1 vykazují při modelech neuropatické bolesti sníženou hypersensitivitu vůči bolestivým podnětům (Staniland et al. 2010).

Role mikroglíí v chronických bolestivých stavech je poněkud kontroverzní. Bylo například prokázáno, že P2X4 knockout myši vykazují nezměněnou zánětlivou reakci po injekci CFA (complete

Freund's adjuvant – roztoku navozujícího zánět) (Tsuda et al. 2009). Všeobecně je **mikroglíóza silnější po poškození hlubokých tkání**, ne u povrchových a kožních poranění (Ji, Berta and Nedergaard 2013, Sun et al. 2007). V **modelu artrózy** se také viditelně projevuje mikroglíóza na úrovni míchy (Nieto et al. 2015), kdy byla prokázána up-regulace a aktivace mikroglíálního CX3CR1 receptoru (Sun et al. 2007).

Na modelu rakoviny kostí u krys byla zjištěna výrazná mikroglíóza na míšní úrovni, a navíc bylo prokázáno, že inhibice mikroglíí potlačuje tuto rakovinou vyvolanou bolest (Yang et al. 2015). Míšní mikroglie udržují bolestivou signalizaci i po odstranění příčiny (národu) a k jejich deaktivaci dochází až po týdnech (14–21 dní). Spinální inhibice mikroglíální signalizace pomocí minocyklinu a inhibitory P2X7 a p38 účinně snižuje i již rozvinutou alodynii a hyperalgezií, ale nebrání rozvoji bolestivých stavů (Yang et al. 2015). P2Y12 a TLR4 také hrají aktivní roli v mikroglíální aktivaci a zvýšení bolestivosti při rakovině kostí (Liu et al. 2017, Meng et al. 2017). Mikroglie mohou hrát různé role v různých modelech rakovinné bolesti a existuje velká variabilita i v reakcích míšních mikroglíí, pravděpodobně kvůli rozdílu v druzích a původu rakovinných buněk.

Aktivace mikroglíí po traumatickém poškození míchy: Ve srovnání s poraněním periferního nervu je časová a prostorová aktivace mikroglíí způsobená poškozením míchy mnohem rychlejší a rozsáhlejší. Přetrvávající mikroglíální reakce se pak také projevuje po celé ose páteře – od krční po bederní oblasti (Gwak et al. 2012).

5.2.5 Pohlavní rozdíly ve vnímání bolesti a aktivitě mikroglíí

Z výzkumů jasně vyplývá, že obě pohlaví vnímají bolest rozdílně. Chronickou bolestí trpí výrazně častěji ženy než muži – a ač je role pohlavních hormonů v tomto fenoménu nepopíratelná, je důležité si uvědomit, že úzce souvisí také se sociálními faktory. Nejen pohlaví, ale také gender přispívá ke vnímání bolesti velmi markantně (Sorge and Totsch 2017).

Bylo zjištěno, že estrogény, jakožto převládající pohlavní hormony žen, mají velký vliv na imunitní reakce – například zvyšují produkci zánětlivých mediátorů typu IL-1 β či IL-6. Velká část pokusů, na kterých byla neuropatická bolest modelována, byla prováděna pouze na samcích – a při stejných modelech na samicích produkovala zásadně odlišné výsledky (typicky například mechanismus P2X4R). Je proto klíčové provádět výzkum v těchto oblastech na zvířecích modelech obou pohlaví (Rosen, Ham and Mogil 2017).

Pohlavní rozdíly ve struktuře a funkci mozku získaly velký vědecký zájem pro náchylnost k psychiatrickým a neurologickým poruchám souvisejícím s pohlavím. **Neuroinflamace** (zánětlivé procesy na nervové úrovni) jsou společným jmenovatelem mnoha z těchto onemocnění, a proto se mikroglie, jakožto imunokompetentní buňky mozku, dostaly do středu pozornosti ve studiích specificky se zaměřujících na tyto pohlavní rozdíly. Bylo zjištěno, že **existují rozdíly ve struktuře i funkci mikroglíí u čerstvě izolovaných mozků samců a samic myši**. Ukazuje se, že samčí mikroglie jsou signifikantně častější ve specifických oblastech mozku (kortex, hippocampus nebo amygdala), mají vyšší schopnost prezentovat antigen a zdá se, že mají i vyšší potenciál reagovat na podněty jako je ATP,

což se odráží ve vyšší expresi vylučovaných proteinů (Guneykaya et al. 2018). Několik studií se zabývalo pohlavními rozdíly v hustotě mikroglíí v různých oblastech mozku. Schwarz a Bilbo (2012) uvádějí, že samice potkanů Sprague-Dawley mají vyšší počet mikroglíí v juvenilním i dospělém věku. Naopak, Acáz-Fonseca a kol. (2015) naznačili, že samice mají nižší hustotu Iba1+ buněk po poranění mozku u myšího modelu kortikálního poranění (Schwarz and Bilbo 2012, Acáz-Fonseca et al. 2015). Jiná studie ukazuje, že ve zdravém mozku se zvyšuje hustota mikroglíí v samičím hipokampu v 3. a 13. týdnu života. Tyto údaje naznačují, že rozdíl pohlaví v hustotě mikroglíí a velikosti somat závisí na oblasti mozku, věku a druhu (Guneykaya et al. 2018).

Bylo také prokázáno, že samice vyžadují k dosažení srovnatelné úrovně analgezie dvakrát až třikrát více morfinu než samci, a to zejména díky reakci **toll-like receptoru 4 (TLR4)** lokalizovaného primárně na mikroglíích. Účinek morfinu na TLR4 iniciuje neuroinflamační reakci, která jde přímo proti analgetickým účinkům morfinu. U samic bylo prokázána zvýšená aktivace mikroglíí (ne však zvýšený počet) v periaqueduktální šedé kůře (PAG), což je centrální oblast zprostředkovávající antinociceptivní účinky morfinu. Tyto výsledky ukazují, že **mikroglie v PAG** jsou sexuálně dimorfní ve své aktivaci a přispívají k sexuálně dimorfním účinkům morfinu (Doyle et al. 2017).

Další studie popisuje také významné rozdíly v transkriptomu dospělých samčích a samičích mikroglíí v důsledku prenatální expozice pohlavním steroidům. Je pozoruhodné, že mikroglie izolované z dospělých mozků si zachovávají rysy specifické pro pohlaví v buněčných kulturách, ale i když se dostanou do kultury nebo jsou transplantovány do mozku opačného pohlaví (Villa et al. 2018). Bylo zjištěno, že samičí mikroglie vykazují výrazné neuroprotektivní účinky tak, že omezují fokální mozkové poškození ischemií. Další výzkumy se soustředí na otázku, zda samičí mikroglie také chrání před rozvojem chronické bolesti (Villa et al. 2018).

Je také známo že **mikrobiom** výrazně ovlivňuje prenatální a dospělé mikroglie pohlavně specifickým způsobem. Antibiotická léčba dospělých myší vyvolala pohlavně signifikantně rozdílné mikroglíální reakce, odhalující jak akutní, tak dlouhodobé účinky (Thion et al. 2018).

6. Závěr

Tato práce shrnuje současné poznatky o přenosu nociceptivního signálu a o patologických bolestivých stavech. Podkladem různých patologických bolestivých stavů jsou změny v nociceptivní signalizaci odehrávající se jak na perifériích, tak v centrální nervové soustavě. Jedním z nejdůležitějších mechanismů je modulace synaptického přenosu v zadním rohu míšním. Právě v míše se nachází první synapse v dráze přenosu bolesti a je zde možné zásadním způsobem ovlivňovat nociceptivní signalizaci z periferních tkání do vyšších mozkových center a vyhodnocování bolestivých podnětů. Velké množství těchto mechanismů však dosud není zcela objasněno a jejich výzkumu se věnuje řada laboratoří po celém světě.

Zvýšená pozornost je v této práci věnována především úloze mikroglíí ve vzniku a vnímání bolesti. Mikroglie mají oproti neuronům a jiným buňkám nervové soustavy svá výrazná specifika, mohly by se stát cílem vývoje léčiv především pro neuropatickou bolest. Přesný klinický význam mikroglální patofyziologie je i přes nepřehledné množství výzkumů na animálních modelech jen velmi obtížné stanovit.

Cílená modulace synaptického přenosu utlumením pronociceptivní aktivity mikroglíí v zadním rohu míchy by mohla být potenciálně účinným mechanismem v léčbě bolestivých stavů. Je tedy nutné se problematikou modulace nociceptivního přenosu nadále zabývat. Detailní porozumění zapojení mikroglíí do těchto procesů je nezbytným předpokladem. Výsledky těchto výzkumů mohou být stěžejní pro vývoj nových vysoce specifických analgetik a léčebných postupů, které bude možné využít k léčbě obtížně zvladatelných bolestivých stavů a které zároveň nebudou pacienty zatěžovat nežádoucími vedlejšími účinky.

Výzkum receptorů a mechanismů, které jsou při přenosu nociceptivního signálu typické pouze pro mikroglie, by také mohl být podkladem pro mé pokračující magisterské studium a diplomovou práci.

7. Seznam použitých zdrojů

Sekundární citace – review a souhrnné klasifikace IASP – jsou označeny *

- Acáz-Fonseca, E., J. C. Duran, P. Carrero, L. M. Garcia-Segura & M. A. Arevalo (2015) Sex differences in glia reactivity after cortical brain injury. *Glia*, 63, 1966-1981.
- Apkarian, A. V., M. C. Bushnell, R. D. Treede & J. K. Zubieta (2005) Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain*, 9, 463-84.*
- Armstrong, N. & E. Gouaux (2000) Mechanisms for activation and antagonism of an AMPA-sensitive glutamate receptor: crystal structures of the GluR2 ligand binding core. *Neuron*, 28, 165-81.
- Basbaum, A. I., D. M. Bautista, G. Scherrer & D. Julius (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139, 267-84.*
- Beggs, S. & M. W. Salter (2007) Stereological and somatotopic analysis of the spinal microglial response to peripheral nerve injury. *Brain Behav Immun*, 21, 624-33.
- Bouhassira, D., M. Lantéri-Minet, N. Attal, B. Laurent & C. Touboul (2008) Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain*, 136, 380-387.
- Brinkmann, B. G., A. Agarwal, M. W. Sereda, A. N. Garratt, T. Müller, H. Wende, R. M. Stassart, S. Nawaz, C. Humml, V. Velanac, K. Radyushkin, S. Goebbels, T. M. Fischer, R. J. Franklin, C. Lai, H. Ehrenreich, C. Birchmeier, M. H. Schwab & K. A. Nave (2008) Neuregulin-1/ErbB signaling serves distinct functions in myelination of the peripheral and central nervous system. *Neuron*, 59, 581-95.
- Campagna-Slater, V. & D. F. Weaver (2007) Molecular modelling of the GABAA ion channel protein. *J Mol Graph Model*, 25, 721-30.
- Cannon, J. G. (2000) Inflammatory Cytokines in Nonpathological States. *News Physiol Sci*, 15, 298-303.
- Caraceni, A., R. K. Portenoy & a. w. g. o. t. I. T. F. o. C. Pain (1999) An international survey of cancer pain characteristics and syndromes. IASP Task Force on Cancer Pain. International Association for the Study of Pain. *Pain*, 82, 263-274.
- Castro-Lopes, J. M., M. Malcangio, B. H. Pan & N. G. Bowers (1995) Complex changes of GABAA and GABAB receptor binding in the spinal cord dorsal horn following peripheral inflammation or neurectomy. *Brain Res*, 679, 289-97.
- Caterina, M. J., T. A. Rosen, M. Tominaga, A. J. Brake & D. Julius (1999) A capsaicin-receptor homologue with a high threshold for noxious heat. *Nature*, 398, 436-41.
- Caterina, M. J., M. A. Schumacher, M. Tominaga, T. A. Rosen, J. D. Levine & D. Julius (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389, 816-24.
- Cesare, P. & P. McNaughton (1996) A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93, 15435-9.
- Chen, X., N. Alessandri-Haber & J. D. Levine (2007) Marked attenuation of inflammatory mediator-induced C-fiber sensitization for mechanical and hypotonic stimuli in TRPV4^{-/-} mice. *Mol Pain*, 3, 31.
- Clark, A. K., C. Gentry, E. J. Bradbury, S. B. McMahon & M. Malcangio (2007) Role of spinal microglia in rat models of peripheral nerve injury and inflammation. *Eur J Pain*, 11, 223-30.
- Davis, J. B., J. Gray, M. J. Gunthorpe, J. P. Hatcher, P. T. Davey, P. Overend, M. H. Harries, J. Latcham, C. Clapham, K. Atkinson, S. A. Hughes, K. Rance, E. Grau, A. J. Harper, P. L. Pugh, D. C. Rogers, S. Bingham, A. Randall & S. A. Sheardown (2000) Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. *Nature*, 405, 183-7.
- Djoughri, L., S. Koutsikou, X. Fang, S. McMullan & S. N. Lawson (2006) Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. *J Neurosci*, 26, 1281-92.
- Doyle, H. H., L. N. Eidson, D. M. Sinkiewicz & A. Z. Murphy (2017) Sex Differences in Microglia Activity within the Periaqueductal Gray of the Rat: A Potential Mechanism Driving the Dimorphic Effects of Morphine. *J Neurosci*, 37, 3202-3214.

- Fields, R. D., A. Araque, H. Johansen-Berg, S. S. Lim, G. Lynch, K. A. Nave, M. Nedergaard, R. Perez, T. Sejnowski & H. Wake (2014) Glial biology in learning and cognition. *Neuroscientist*, 20, 426-31.*
- Flaster, M., E. Meresh, M. Rao & J. Biller (2013) Central poststroke pain: current diagnosis and treatment. *Top Stroke Rehabil*, 20, 116-23.*
- From, R., R. Eilam, D. D. Bar-Lev, S. Levin-Zaidman, M. Tsoory, P. LoPresti, M. Sela, R. Arnon & R. Aharoni (2014) Oligodendrogenesis and myelinogenesis during postnatal development effect of glatiramer acetate. *Glia*, 62, 649-65.
- Furukawa, H., S. K. Singh, R. Mancusso & E. Gouaux (2005) Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature*, 438, 185-92.
- Gamse, R., A. Molnar & F. Lembeck (1979) Substance P release from spinal cord slices by capsaicin. *Life Sci*, 25, 629-36.
- Ganguly, K., A. F. Schinder, S. T. Wong & M. Poo (2001) GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABAergic responses from excitation to inhibition. *Cell*, 105, 521-32.
- Gao, Y. J. & R. R. Ji (2010) Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol Ther*, 126, 56-68.*
- Ginhoux, F., S. Lim, G. Hoeffel, D. Low & T. Huber (2013) Origin and differentiation of microglia. *Front Cell Neurosci*, 7, 45.*
- Guneykaya, D., A. Ivanov, D. P. Hernandez, V. Haage, B. Wojtas, N. Meyer, M. Maricos, P. Jordan, A. Buonfiglioli, B. Gielniewski, N. Ochocka, C. Cömert, C. Friedrich, L. S. Artiles, B. Kaminska, P. Mertins, D. Beule, H. Kettenmann & S. A. Wolf (2018) Transcriptional and Translational Differences of Microglia from Male and Female Brains. *Cell Rep*, 24, 2773-2783.e6.
- Gwak, Y. S., J. Kang, G. C. Unabia & C. E. Hulsebosch (2012) Spatial and temporal activation of spinal glial cells: role of gliopathy in central neuropathic pain following spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*, 234, 362-72.*
- Hains, B. C. & S. G. Waxman (2006) Activated microglia contribute to the maintenance of chronic pain after spinal cord injury. *J Neurosci*, 26, 4308-17.
- Haley, J. E., A. F. Sullivan & A. H. Dickenson (1990) Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. *Brain Res*, 518, 218-26.
- Harvey, R. J., U. B. Depner, H. Wässle, S. Ahmadi, C. Heindl, H. Reinold, T. G. Smart, K. Harvey, B. Schütz, O. M. Abo-Salem, A. Zimmer, P. Poisbeau, H. Welzl, D. P. Wolfer, H. Betz, H. U. Zeilhofer & U. Müller (2004) GlyR alpha3: an essential target for spinal PGE2-mediated inflammatory pain sensitization. *Science*, 304, 884-7.
- Hinman, A., H. H. Chuang, D. M. Bautista & D. Julius (2006) TRP channel activation by reversible covalent modification. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, 19564-8.
- Hu, J., N. Milenkovic & G. R. Lewin (2006) The high threshold mechanotransducer: a status report. *Pain*, 120, 3-7.*
- Ji, R. R., T. Berta & M. Nedergaard (2013) Glia and pain: is chronic pain a gliopathy? *Pain*, 154 Suppl 1, S10-S28.*
- Jin, S. X., Z. Y. Zhuang, C. J. Woolf & R. R. Ji (2003) p38 mitogen-activated protein kinase is activated after a spinal nerve ligation in spinal cord microglia and dorsal root ganglion neurons and contributes to the generation of neuropathic pain. *J Neurosci*, 23, 4017-22.
- Johnson, R. W. & A. S. Rice (2014) Clinical practice. Postherpetic neuralgia. *N Engl J Med*, 371, 1526-33.*
- Kaupmann, K., K. Huggel, J. Heid, P. J. Flor, S. Bischoff, S. J. Mickel, G. McMaster, C. Angst, H. Bittiger, W. Froestl & B. Bettler (1997) Expression cloning of GABA(B) receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature*, 386, 239-46.
- Keller, A. F., S. Beggs, M. W. Salter & Y. De Koninck (2007) Transformation of the output of spinal lamina I neurons after nerve injury and microglia stimulation underlying neuropathic pain. *Mol Pain*, 3, 27.
- Kigerl, K. A., J. C. Gensel, D. P. Ankeny, J. K. Alexander, D. J. Donnelly & P. G. Popovich (2009) Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord. *J Neurosci*, 29, 13435-44.

- Kim, Y. I., H. S. Na, Y. W. Yoon, H. C. Han, K. H. Ko & S. K. Hong (1997) NMDA receptors are important for both mechanical and thermal allodynia from peripheral nerve injury in rats. *Neuroreport*, 8, 2149-53.
- Klit, H., N. B. Finnerup & T. S. Jensen (2009) Central post-stroke pain: clinical characteristics, pathophysiology, and management. *Lancet Neurol*, 8, 857-68.*
- Kobiela Ketz, A., K. R. Byrnes, N. E. Grunberg, C. E. Kasper, L. Osborne, B. Pryor, N. L. Tosini, X. Wu & J. J. Anders (2017) Characterization of Macrophage/Microglial Activation and Effect of Photobiomodulation in the Spared Nerve Injury Model of Neuropathic Pain. *Pain Med*, 18, 932-946.
- Kwan, K. Y., A. J. Allchorne, M. A. Vollrath, A. P. Christensen, D. S. Zhang, C. J. Woolf & D. P. Corey (2006) TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction. *Neuron*, 50, 277-89.
- Latremoliere, A. & C. J. Woolf (2009) Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain*, 10, 895-926.*
- Liedtke, W., Y. Choe, M. A. Martí-Renom, A. M. Bell, C. S. Denis, A. Sali, A. J. Hudspeth, J. M. Friedman & S. Heller (2000) Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell*, 103, 525-35.
- Liu, M., M. Yao, H. Wang, L. Xu, Y. Zheng, B. Huang, H. Ni, S. Xu, X. Zhou & Q. Lian (2017) P2Y₁₂ receptor-mediated activation of spinal microglia and p38MAPK pathway contribute to cancer-induced bone pain. *J Pain Res*, 10, 417-426.
- Lovell, R. M. & A. C. Ford (2012) Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 10, 712-721.e4.
- Ma, Q. P. (2001) Vanilloid receptor homologue, VRL1, is expressed by both A- and C-fiber sensory neurons. *Neuroreport*, 12, 3693-5.
- Macpherson, L. J., S. W. Hwang, T. Miyamoto, A. E. Dubin, A. Patapoutian & G. M. Story (2006) More than cool: promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds. *Mol Cell Neurosci*, 32, 335-43.
- Malan, T. P., H. P. Mata & F. Porreca (2002) Spinal GABA(A) and GABA(B) receptor pharmacology in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology*, 96, 1161-7.
- Mayer, M. L. (2005) Crystal structures of the GluR5 and GluR6 ligand binding cores: molecular mechanisms underlying kainate receptor selectivity. *Neuron*, 45, 539-52.
- McKemy, D. D., W. M. Neuhausser & D. Julius (2002) Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*, 416, 52-8.
- Meng, X. W., J. L. Gao, J. L. Zuo, L. N. Wang, S. L. Liu, X. H. Jin, M. Yao & M. Namaka (2017) Toll-like receptor-4/p38 MAPK signaling in the dorsal horn contributes to P2X₄ receptor activation and BDNF over-secretion in cancer induced bone pain. *Neurosci Res*, 125, 37-45.
- Merskey H, A. F. D., Bonica JJ, Carmon A, Dubner R, Kerr FWL, Lindblom U, Mumford JM, Nathan PW, Noordenbos W, Pagni CA, Renner MJ, Sternbach RA, Sunderland S (1979) Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. *Pain*, 6, 249.*
- Millan, M. J. (1999) The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol*, 57, 1-164. --- (2002) Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, 66, 355-474.*
- Montague-Cardoso, K., P. Mrozkova & M. Malcangio (2020) The Role of Spinal Cord CX3CL1/CX3CR1 Signalling in Chronic Pain. *Curr. Tissue Microenviron. Rep.**
- Nieto, F. R., A. K. Clark, J. Grist, V. Chapman & M. Malcangio (2015) Calcitonin gene-related peptide-expressing sensory neurons and spinal microglial reactivity contribute to pain states in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 67, 1668-77.
- Nimmerjahn, A., F. Kirchhoff & F. Helmchen (2005) Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 308, 1314-8.
- O'Hagan, R., M. Chalfie & M. B. Goodman (2005) The MEC-4 DEG/ENaC channel of *Caenorhabditis elegans* touch receptor neurons transduces mechanical signals. *Nat Neurosci*, 8, 43-50.
- Peier, A. M., A. Moqrich, A. C. Hergarden, A. J. Reeve, D. A. Andersson, G. M. Story, T. J. Earley, I. Dragoni, P. McIntyre, S. Bevan & A. Patapoutian (2002) A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*, 108, 705-15.

- Powell, E. M. & H. M. Geller (1999) Dissection of astrocyte-mediated cues in neuronal guidance and process extension. *Glia*, 26, 73-83.
- Rosen, S., B. Ham & J. S. Mogil (2017) Sex differences in neuroimmunity and pain. *J Neurosci Res*, 95, 500-508.*
- Sakurada, T., K. Tan-No, T. Yamada, S. Sakurada & K. Kisara (1990) Phosphoramidon potentiates mammalian tachykinin-induced biting, licking and scratching behaviour in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 37, 779-83.
- Sarzi-Puttini, P., V. Giorgi, D. Marotto & F. Atzeni (2020) Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*, 16, 645-660.*
- Schaefer, C., A. Sadosky, R. Mann, S. Daniel, B. Parsons, M. Tuchman, A. Anshel, B. R. Stacey, S. Nalamachu & E. Nieshoff (2014) Pain severity and the economic burden of neuropathic pain in the United States: BEAT Neuropathic Pain Observational Study. *Clinicoecon Outcomes Res*, 6, 483-96.
- Schreiber, A. K., C. F. Nones, R. C. Reis, J. G. Chichorro & J. M. Cunha (2015) Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment. *World J Diabetes*, 6, 432-44.*
- Schwarz, J. M. & S. D. Bilbo (2012) Sex, glia, and development: interactions in health and disease. *Horm Behav*, 62, 243-53.*
- Shu, X. & L. M. Mendell (1999) Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin. *Neurosci Lett*, 274, 159-62.
- Sofroniew, M. V. & H. V. Vinters (2010) Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 119, 7-35.*
- Sonohata, M., T. Tsuruta, H. Mine, A. Asami, H. Ishii, K. Tsunoda, T. Morimoto & M. Mawatari (2014) Clinical characteristics of neuropathic pain in patients with carpal tunnel syndrome. *Hand Surg*, 19, 43-8.
- Sorge, R. E. & S. K. Totsch (2017) Sex Differences in Pain. *J Neurosci Res*, 95, 1271-1281.*
- Staniland, A. A., A. K. Clark, R. Wodarski, O. Sasso, F. Maione, F. D'Acquisto & M. Malcangio (2010) Reduced inflammatory and neuropathic pain and decreased spinal microglial response in fractalkine receptor (CX3CR1) knockout mice. *J Neurochem*, 114, 1143-57.
- Steen, K. H., P. W. Reeh, F. Anton & H. O. Handwerker (1992) Protons selectively induce lasting excitation and sensitization to mechanical stimulation of nociceptors in rat skin, in vitro. *J Neurosci*, 12, 86-95.
- Steen, K. H., A. E. Steen, H. W. Kreysel & P. W. Reeh (1996) Inflammatory mediators potentiate pain induced by experimental tissue acidosis. *Pain*, 66, 163-70.
- Streit, W. J., S. A. Walter & N. A. Pennell (1999) Reactive microgliosis. *Prog Neurobiol*, 57, 563-81.*
- Sun, S., H. Cao, M. Han, T. T. Li, H. L. Pan, Z. Q. Zhao & Y. Q. Zhang (2007) New evidence for the involvement of spinal fractalkine receptor in pain facilitation and spinal glial activation in rat model of monoarthritis. *Pain*, 129, 64-75.
- Takeda, M., T. Mochizuki, M. Yoshiyama, H. Nakagomi, H. Kobayashi, N. Sawada, H. Zakohji, S. DU & I. Araki (2010) Sensor Mechanism and Afferent Signal Transduction of the Urinary Bladder: Special Focus on transient receptor potential Ion Channels. *Low Urin Tract Symptoms*, 2, 51-60.
- Tan, Y. H., K. Li, X. Y. Chen, Y. Cao, A. R. Light & K. Y. Fu (2012) Activation of Src family kinases in spinal microglia contributes to formalin-induced persistent pain state through p38 pathway. *J Pain*, 13, 1008-15.
- Themistocleous, A. C., G. Crombez, G. Baskozos & D. L. Bennett (2018) Using stratified medicine to understand, diagnose, and treat neuropathic pain. *Pain*, 159 Suppl 1, S31-S42.*
- Thion, M. S., D. Low, A. Silvin, J. Chen, P. Grisel, J. Schulte-Schrepping, R. Blecher, T. Ulas, P. Squarzoni, G. Hoeffel, F. Couplier, E. Siopi, F. S. David, C. Scholz, F. Shihui, J. Lum, A. A. Amoyo, A. Larbi, M. Poidinger, A. Buttgerit, P. M. Lledo, M. Greter, J. K. Y. Chan, I. Amit, M. Beyer, J. L. Schultze, A. Schlitzer, S. Pettersson, F. Ginhoux & S. Garel (2018) Microbiome Influences Prenatal and Adult Microglia in a Sex-Specific Manner. *Cell*, 172, 500-516.e16.
- Thompson, S. W., A. Dray & L. Urban (1994) Injury-induced plasticity of spinal reflex activity: NK1 neurokinin receptor activation and enhanced A- and C-fiber mediated responses in the rat spinal cord in vitro. *J Neurosci*, 14, 3672-87.

- Tominaga, M., M. J. Caterina, A. B. Malmberg, T. A. Rosen, H. Gilbert, K. Skinner, B. E. Raumann, A. I. Basbaum & D. Julius (1998) The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, 21, 531-43.
- Torsney, C. & A. B. MacDermott (2006) Disinhibition opens the gate to pathological pain signaling in superficial neurokinin 1 receptor-expressing neurons in rat spinal cord. *J Neurosci*, 26, 1833-43.
- Trang, T., S. Beggs, X. Wan & M. W. Salter (2009) P2X4-receptor-mediated synthesis and release of brain-derived neurotrophic factor in microglia is dependent on calcium and p38-mitogen-activated protein kinase activation. *J Neurosci*, 29, 3518-28.
- Treede, R. D. (2018) The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. *Pain Rep*, 3, e643.*
- Treede, R. D., W. Rief, A. Barke, Q. Aziz, M. I. Bennett, R. Benoliel, M. Cohen, S. Evers, N. B. Finnerup, M. B. First, M. A. Giambardino, S. Kaasa, E. Kosek, P. Lavand'homme, M. Nicholas, S. Perrot, J. Scholz, S. Schug, B. H. Smith, P. Svensson, J. W. S. Vlaeyen & S. J. Wang (2015) A classification of chronic pain for ICD-11. *Pain*, 156, 1003-1007.*
- Tsuda, M., K. Kuboyama, T. Inoue, K. Nagata, H. Tozaki-Saitoh & K. Inoue (2009) Behavioral phenotypes of mice lacking purinergic P2X4 receptors in acute and chronic pain assays. *Mol Pain*, 5, 28.
- Tsuda, M., Y. Shigemoto-Mogami, S. Koizumi, A. Mizokoshi, S. Kohsaka, M. W. Salter & K. Inoue (2003) P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature*, 424, 778-83.
- Vickery, R. M., S. H. Morris & L. J. Bindman (1997) Metabotropic glutamate receptors are involved in long-term potentiation in isolated slices of rat medial frontal cortex. *J Neurophysiol*, 78, 3039-46.
- Villa, A., P. Gelosa, L. Castiglioni, M. Cimino, N. Rizzi, G. Pepe, F. Lolli, E. Marcello, L. Sironi, E. Vegeto & A. Maggi (2018) Sex-Specific Features of Microglia from Adult Mice. *Cell Rep*, 23, 3501-3511.
- Wake, H., A. J. Moorhouse, S. Jinno, S. Kohsaka & J. Nabekura (2009) Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci*, 29, 3974-80.
- Xu, H., N. T. Blair & D. E. Clapham (2005) Camphor activates and strongly desensitizes the transient receptor potential vanilloid subtype 1 channel in a vanilloid-independent mechanism. *J Neurosci*, 25, 8924-37.
- Xu, H., I. S. Ramsey, S. A. Kotecha, M. M. Moran, J. A. Chong, D. Lawson, P. Ge, J. Lilly, I. Silos-Santiago, Y. Xie, P. S. DiStefano, R. Curtis & D. E. Clapham (2002) TRPV3 is a calcium-permeable temperature-sensitive cation channel. *Nature*, 418, 181-6.
- Yang, Y., H. Li, T. T. Li, H. Luo, X. Y. Gu, N. Lü, R. R. Ji & Y. Q. Zhang (2015) Delayed activation of spinal microglia contributes to the maintenance of bone cancer pain in female Wistar rats via P2X7 receptor and IL-18. *J Neurosci*, 35, 7950-63.
- Yoshimura, M. & S. Nishi (1995) Primary afferent-evoked glycine- and GABA-mediated IPSPs in substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord in vitro. *J Physiol*, 482 (Pt 1), 29-38.
- Zhang, N., S. Inan, A. Cowan, R. Sun, J. M. Wang, T. J. Rogers, M. Caterina & J. J. Oppenheim (2005) A proinflammatory chemokine, CCL3, sensitizes the heat- and capsaicin-gated ion channel TRPV1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 4536-41.
- Zhuang, Z. Y., P. Gerner, C. J. Woolf & R. R. Ji (2005) ERK is sequentially activated in neurons, microglia, and astrocytes by spinal nerve ligation and contributes to mechanical allodynia in this neuropathic pain model. *Pain*, 114, 149-59.

Převzaté obrázky

- Obrázek 1 – Baldock, R., Bard, J., Davidson, D. R., Morriss-Kay, G., Kaufman, M. H. (2016). *Kaufman's atlas of mouse development supplement: with coronal sections*. Elsevier/Academic Press
- Obrázek 2 – Basbaum, A. I., D. M. Bautista, G. Scherrer & D. Julius (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139, 267-84.*
- Obrázek 3 – Basbaum, A. I., D. M. Bautista, G. Scherrer & D. Julius (2009) Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 139, 267-84.*
- Obrázek 4 –
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a6/Blausen_0870_TypesofNeuroglia.png/1125px-Blausen_0870_TypesofNeuroglia.png Blausen.com staff: Medical gallery of Blausen Medical, 2014, aktuální k 27. 4. 2021
- Obrázek 5 – Fernández-Carvajal, A., G. Fernández-Ballester, I. Devesa, J. M. González-Ros & A. Ferrer-Montiel (2011) New strategies to develop novel pain therapies: addressing thermoreceptors from different points of view. *Pharmaceuticals (Basel)*, 5, 16-48., upraveno
- Obrázek 6 – Watkins, J. C. & D. E. Jane (2006) The glutamate story. *Br J Pharmacol*, 147 Suppl 1, S100-8.*
- Obrázek 7 – Louw, A., J. Nijs & E. J. Puentedura (2017) A clinical perspective on a pain neuroscience education approach to manual therapy. *J Man Manip Ther*, 25, 160-168.
- Obrázek 8 – Nakagawa, Y. & K. Chiba (2014) Role of microglial m1/m2 polarization in relapse and remission of psychiatric disorders and diseases. *Pharmaceuticals (Basel)*, 7, 1028-48.*

Seznam knih a použitých webů

- Čihák, R. (2016). *Anatomie 3*. Praha: Grada.
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., Hudspeth, A. J., Mack, S. (2013). *Principles of neural science*. McGraw-Hill Education LLC.
- Baldock, R., Bard, J., Davidson, D. R., Morriss-Kay, G., Kaufman, M. H. (2016). *Kaufman's atlas of mouse development supplement: with coronal sections*. Elsevier/Academic Press. – **pouze obrázek 1**
- Willis, W. D., Coggeshall, R. E. (2004). *Sensory mechanisms of the spinal cord*. Kluwer.
- https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a6/Blausen_0870_TypesofNeuroglia.png/1125px-Blausen_0870_TypesofNeuroglia.png Blausen.com staff: Medical gallery of Blausen Medical, 2014, aktuální k 27. 4. 2021 – **pouze obrázek 4**