

Abstrakt

Bolest je běžným příznakem mnoha klinických syndromů a nemocí. Zejména léčba bolestí neuropatického původu představuje závažný medicínský problém, neboť dostupná analgesie je v řadě případů neúčinná, nebo má výrazné nežádoucí účinky. Vývoj nových analgetických postupů a úspěšná léčba bolesti proto vyžaduje podrobnou znalost mechanismů vzniku akutních i chronických bolestivých stavů. Proces vzniku, kódování a přenosu signálů o bolestivých podnětech zprostředkovává nociceptivní systém, který je klíčový pro vznik vjemu bolesti v mozku. Modulace nociceptivního synaptického přenosu v zadním rohu míšním představuje důležitý mechanismus ve vývoji a udržování různých patologických stavů bolesti.

Tato disertační práce se zaměřila na zkoumání a objasnění některých mechanismů podílejících se na zpracování a modulaci míšního nociceptivního synaptického přenosu u různých modelů bolestivých stavů. Hlavní pozornost byla věnována studiu následujících otázek: (I.) Jakou úlohu mají TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid type 1) kanály, TLR4 (Toll-Like Receptor 4) a PI3K (fosfatidylinositol 3-kináza) v rozvoji neuropatické bolesti po podání chemoterapeutika paclitaxel (PAC) v akutním *in vitro* a subchronickém *in vivo* myším modelu PAC-indukované periferní neuropatie (PIPn)? (II.) Do jaké míry je ovlivněna míšní inhibiční synaptická kontrola u animálního modelu PIPn, akutního periferního zánětu a chronického konstriktivního poranění sedacího nervu (CCI) u transgenního kmene myši VGAT-ChR2-eYFP? (III.) Jak ovlivní inhibice sodíkového kanálu $Na_v1.7$ specifickým antagonistou protoxinem II spinální nociceptivní signalizaci u modelu termálního poškození kůže? (IV.) Jak *N*-arachidonoyl-fosfatidylethanolamin (20:4-NAPE), prekurzor anandamidu (AEA), moduluje nociceptivní synaptický přenos u modelu akutního periferního zánětu a jakou roli hraje kanabinoidní receptor 1 (CB_1) v tomto procesu?

Pro zkoumání těchto cílů byla využívána metoda patch-clamp v konfiguraci snímání z celé buňky, která nám umožnila snímání excitačních či inhibičních postsynaptických proudů (EPSC, resp. IPSC). Dále bylo využíváno behaviorální měření mechanické či tepelné citlivosti a imunohistochemická analýza.

Naše výsledky ukázaly, že: (I.) Přímá funkční interakce mezi TLR4 a TRPV1 receptory, zejména prostřednictvím PI3K signalizace, hraje důležitou roli v (a) PAC-indukovaném nárůstu frekvence miniaturních EPSC v neuronech zadního rohu míšního, (b) v modulaci a tachyfyaxi kapsaicinem vyvolaných odpovědí zprostředkovaných TRPV1 kanály na presynaptických zakončeních primárních aferentů v míše a (c) v PAC-indukované mechanické alodynii. Všechny tyto PAC-indukované změny bylo možné zablokovat inhibítorem PI3K wortmanninem. Mechanismus závislý na TRPV1 je také nezbytný pro PAC-indukované zvýšení exprese proteinu c-Fos v neuronech zadního rohu. (II.) Naše předběžné výsledky poukazují na významnou roli disinhibice v zadním rohu míšním v rozvoji mechanické alodynie ve všech testovaných modelech bolestivých stavů (PIPn, periferní zánět a CCI). (III.) Inhibitor $Na_v1.7$ kanálu protoxin II významně omezil zvýšenou excitační aktivitu v populaci nociceptivních, kapsaicin-senzitivních neuronů u modelu termálního poškození kůže. (IV.) Potvrdili jsme hypotézu, že 20:4-NAPE slouží jako zdroj pro endogenní syntézu AEA v míše *in vitro* a že inhibiční účinek 20:4-NAPE je zprostředkován mechanismem závislým na CB_1 . Tento analgetický účinek 20:4-NAPE

zprostředkovaný CB₁ receptory je však za zánětlivých stavů částečně modifikován dalším mechanismem závislým na aktivaci TRPV1 kanálů.

V souhrnu naše data podporují názor, že za různých patologických bolestivých stavů dochází k výrazné modulaci nociceptivního synaptického přenosu na míšní úrovni. Ukázali jsme také, že vhodná intervence a farmakologická léčba mohou pomoci zmírnit zvýšený nociceptivní přenos, nebo utlumit behaviorální projevy související s bolestí u zvířat.

Porozumění mechanismům modulace nociceptivního synaptického přenosu je nezbytným předpokladem pro zlepšení terapeutických přístupů pro léčbu bolestivých stavů v budoucnosti.