

## Abstrakt

Bolest je hlavním příznakem mnoha onemocnění a často se může stát hlavním negativním faktorem nízké kvality života pacienta. Komplexní problematiku léčby bolesti dále podtrhuje snížená účinnost konvenčních analgetik např. u neuropatické bolesti. Neuropatická bolest na rozdíl od akutní nociceptivní bolesti vzniká v důsledku poškození periferního nebo centrálního nervového systému a často přechází v syndrom chronické bolesti. Většina dnes dostupných analgetik poskytuje u chronické neuropatické bolesti pouze omezenou a neuspokojivou analgezii, která je často spojena se závažnými nežádoucími účinky.

Modulace nociceptivního přenosu v zadním rohu míchy (SCDH) je považována za klíčový mechanismus při vzniku a udržování zejména chronické bolesti. Hlavním cílem této disertační práce bylo studovat, jak modulační procesy synaptického přenosu v zadním rohu míšním ovlivňují analgezii navozenou opioidy. Práce byla zaměřena zejména na interakci mezi CCL2 (z angl. chemokine (C-C motif) ligand 2), TRPV1 (z angl. transient receptor potential vanilloid type 1) a  $\mu$ -opioidním receptorem (MOR). Pro pochopení modulačních vlivů opioidní signalizace v SCDH jsme si položili následující otázky: (I.) Jak CCL2 moduluje účinky aktivace MOR na nociceptivní synaptický přenos v neuronech SCDH *in vitro* a *in vivo* během opioidy zprostředkované analgezie? (II.) Jsou účinky zprostředkované CCL2 závislé na aktivaci mikroglií? (III.) Jaká je role receptorů TRPV1 při vzniku opioidy indukované hyperalgezie (OIH) a jak může aktivace TRPV1 endogenním agonistou N-oleoyldopaminem (OLDA) modulovat desenzitizaci MOR? Druhým cílem práce bylo studovat úlohu fosfatidylinositol 3-kinázy (PI3K) v rozvoji neuropatické bolesti vyvolané chemoterapií paclitaxelem (PAC).

Jako primární metoda pro zkoumání modulace nociceptivního přenosu v SCDH byla použita metoda terčíkového zámku (patch-clamp) snímání excitačních postsynaptických proudů (EPSCs) z nociceptivních neuronů zadního rohu v akutních míšních řezech. Elektrofyzilogická data byla doplněna behaviorálními experimenty a imunohistochemickou analýzou tkání.

Naše výsledky ukázaly, že aplikace MOR specifického agonisty [D-Ala<sup>2</sup>, N-MePhe<sup>4</sup>, Gly-ol]-enkefalin (DAMGO) vede k silné inhibici excitačního nociceptivního přenosu a snížení citlivosti na tepelné podněty (analgezii). Dále jsme ukázali, že analgezie zprostředkovaná DAMGO je výrazně oslabena po aplikaci CCL2, a tento efekt je závislý na aktivaci mikroglií. Dále jsme ukázali nutnost aktivace receptoru TRPV1 pro rozvoj opioidy navozené hyperalgezie (OIH), v našich experimentech sledované jako opožděná potenciace evokovaných EPSC v neuronech SCDH. Naše dosud nepublikované výsledky z experimentů zaměřených na interakci TRPV1-MOR naznačují, že aktivace TRPV1 endogenním agonistou může snížit jak DAMGO, tak CCL2 indukovanou desenzitizaci MOR. Výsledky dvou studií zaměřených na periferní neuropatii vyvolanou PAC (PIP) potvrzují významné zvýšení aktivity PI3K a známek neuroinflammace ve spinálních gangliích (DRG). Důležité je zejména zjištění, že lék schválený ke klinickému použití Duvelisib, specifický inhibitor PI3K, může snížením aktivity PI3K výrazně omezit infiltraci/proliferaci makrofágů v DRG.

Výsledky tohoto doktorského projektu odhalují nové potenciální cesty ve výzkumu léčby bolesti a zdůrazňují ústřední roli TRPV1, CCL2 a PI3K v modulaci nociceptivního přenosu. Další výzkum těchto základních mechanismů modulace nociceptivní signalizace by mohl přispět ke zlepšení analgetické léčby pacientů.

Klíčová slova: bolest, nocicepce, neuropatická bolest, CCL2, opioidy, TRPV1, paclitaxel, PI3K