

Anotace

Modulace synaptického přenosu v zadním rohu míšním hraje klíčovou úlohu v nociceptivní signalizaci, zejména za patologických bolestivých stavů. Cílem naší práce bylo rozvinout metodu calcium imagingu na míšních řezech *in vitro*. Tato metoda umožňuje sledovat změny intracelulární koncentrace volných vápenatých iontů (iCa^{2+}), které jsou hlavním mediátorem neuronální plasticity. V naší práci jsme se soustředili na použití této metody na konvenčním fluorescenčním mikroskopu a na studium vlivu aplikace látek ovlivňujících synaptický přenos. V experimentech byly snímány koncentrační změny iCa^{2+} v 744 neuronech zadních rohů míšních (lamina I a II) po elektrické stimulaci zadních kořenů.

V první sérii experimentů byly použity stimulační protokoly preferenčně aktivující A a A+C vlákna zadních kořenů a ověřena dlouhodobá stabilita vápníkových odpovědí. Stimulace zadního kořene vyvolala ve sledovaných neuronech rychlý a pozdní typ vápníkové odpovědi.

Aplikace antagonistů glutamátových receptorů AMPA a NMDA typu, CNQX ($50\mu\text{M}$) a MK801 ($45\mu\text{M}$) snížila podle očekávání amplitudu vápníkové odpovědi oproti kontrolním hodnotám a potvrdila jejich jednoznačný význam pro synaptickou aktivaci. V několika pokusech jsme zkoumali účinek kapsaicinu, známého agonisty TRPV1 receptorů. Aplikace i nízké koncentrace kapsaicinu (30nM) výrazně a dlouhodobě snižovala vápníkovou odpověď po stimulaci oproti kontrolním hodnotám. Tyto výsledky svědčí o pravděpodobné inaktivaci presynaptických zakončení exprimujících TRPV1 receptory kapsaicinem. V předběžné sérii pokusů jsme také testovali, o nichž je známo, že mohou modulovat nociceptivní synaptický přenos ($\text{TNF}\alpha$, PMA a bradykinin).

Získané výsledky ukázaly, že použitý model snímání neuronální aktivity *in vitro* umožňuje sledovat synaptickou aktivaci populace neuronů v míšním řezu a její modulaci po aplikaci farmak. Studium mechanismů modulace nociceptivního přenosu může přispět k novým terapeutickým přístupům při léčbě bolesti.