

Předkládaná disertační práce má za cíl přispět k objasnění míšních mechanismů nocicepce. Jedním z důležitých mechanismů podílejících se na vzniku a průběhu řady chronických bolestivých stavů je tzv. centrální sensitizace. Jedná se o formu dlouhodobé modulace synaptického přenosu na míšní úrovni, neboli synaptické plasticity.

Tato studie se ve své hlavní části zabývá vývojem metody, která by s využitím techniky calcium imagingu umožnila studovat mechanismy centrální sensitizace *in vitro* na populaci neuronů zadního míšního rohu. V pokusech provedených na akutních míšních řezech jsme snímali změny fluorescence u Ca-senzitivní sondy FLUO-4 v neuronech zadního rohu. Provedená analýza změn intracelulární koncentrace Ca, ke kterým docházelo během synaptického přenosu vyvolaného stimulací zadního kořene míšního, odhalila dva odlišné typy Ca odpovědí. První typ odpovědi byl synchronizovaný s elektrickou stimulací, zatímco pozdní typ, odpovídající uvolnění Ca z vnitřních Ca zdrojů, následoval po určité časové prodlevě po stimulaci. Tyto pozdní Ca odpovědi, nezávislé na aktivaci ionotropních glutamátových receptorů, naznačují zapojení metabotropních drah při jejich aktivaci a nebyly doposud u tohoto typu neuronů zaznamenány. Je možné usuzovat, že takto uvolněný vápník, o kterém se uvažuje jako o klíčovém spouštěčím signálu neuronální sensitizace v míše, se může významným způsobem podílet i na vzniku některých typů chronických bolestivých syndromů.

Významnou roli v udržování neuronální Ca homeostázy v neuronech mají vápníkové pufrы. V dalších experimentech jsme proto zkoumali změny v expresi Ca pufru parvalbuminu v míše u modelu arthritidy. Navození zánětu indukovalo významné snížení exprese parvalbuminu v neuropilu, v ipsilaterální části zadního rohu míšního. Tyto změny mohly probíhat i v GABAergních neuronech. S využitím calcium imagingu jsme vyvinuli *in vitro* model centrální sensitizace neuronů zadního míšního rohu. Tato metoda, narušující od techniky patch clamp, umožňuje snímání intracelulárních vápníkových změn současně v početné populaci neuronů zadního rohu. Centrální sensitizaci jsme v našem modelu navodili aplikací capsaicinu, který aktivuje TRPV1 receptory na primárních aferentech v míše a vede k sensitizaci neuronů zadního míšního rohu. Míra sensitizace byla měřena jako zvýšení intracelulární koncentrace Ca v odpovědi na kontrolní stimulaci zadního míšního kořene. Využití *in vitro* modelu centrální sensitizace, spolu s genetickým značením určitých neuronálních populací by mohlo v budoucnu přinést výsledky při hledání nových látek s analgetickým účinkem.