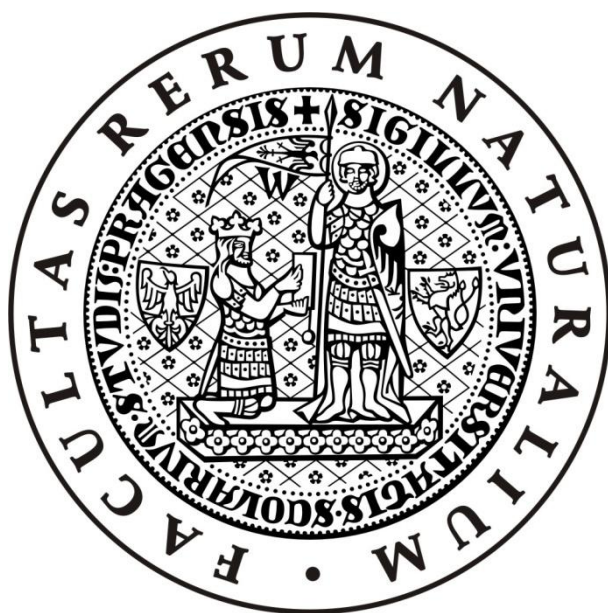


Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie (BBI)



Pavel Adámek

Úloha modulace synaptického přenosu při bolestivých stavech

The role of synaptic modulation in pain states

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: MUDr. Jiří Paleček, CSc.

Praha 2012

Prohlášení

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

V Praze dne 5. 5. 2012

Pavel Adámek

Poděkování

Chtěl bych zde poděkovat svému školiteli, MUDr. Jiřímu Palečekovi, CSc. za vedení mé bakalářské práce, vstřícný přístup, rady a podnětné připomínky, které mi během psaní této práce poskytoval.

Abstrakt

S bolestí se setkal pravděpodobně každý z nás. Podle definice se jedná o nepříjemnou senzorickou a emocionální zkušenost, spojenou se skutečným nebo potenciálním poškozením tkáně. V periferních tkáních akutní bolestivé podněty aktivují specializovaná zakončení aferentních neuronů, zvané nociceptory. Informace z periferie se dostává k tělu buněk těchto neuronů v míšních gangliích nemyelinizovanými, nebo slabě myelinizovanými axony (C, respektive A δ vlákny). Centrální výběžky těchto neuronů tvoří synapse s neurony v povrchových vrstvách zadního rohu míšního. Informace je předávána na synapsích za pomoci neurotransmiterů, jako je například glutamát, a dalších neuromodulátorů. Důležitá je následná aktivace projekčních neuronů, které předávají informaci o poškozujících podnětech dále do supraspinálních center. Pro modulaci nociceptivní informace na míšní úrovni je důležitá také aktivita excitačních a inhibičních interneuronů, gliových buněk a následně také sestupných drah z vyšších oblastí CNS. Při poškození periferních tkání a při dalších patologických stavech může dojít ke zvýšené citlivosti na periferní podněty. V důsledku toho mohou být pociťovány jako bolestivé i běžně nebolestivé stimuly (alodynie) a vzrůstá odpověď na bolestivé stimuly (hyperalgezie). Podkladem této zvýšené citlivosti mohou být periferní a centrální mechanismy. Tato práce shrnuje základní poznatky o zpracování nociceptivních vstupů v zadním rohu míšním. Poznání a studium těchto mechanismů je důležité pro vývoji nových účinnějších analgetik.

Klíčová slova: bolest, nocicepce, periferní dostředivé vlákno, mícha, zadní roh míšní, alodynie, hyperalgezie.

Abstract

Everybody has experienced pain. Pain by definition is an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage. In the peripheral tissues acute painful stimuli activate specialized endings of afferent neurons called nociceptors. The information about tissue damage is then transmitted to the cell bodies of these dorsal root ganglion neurons by unmyelinated or thinly myelinated axons (C and A δ fibers, respectively). The central branches of these neurons form synapses with superficial dorsal horn neurons in the spinal cord. The information is conveyed at the synaptic connections by neurotransmitters such as glutamate and many others neuromodulators. Important is the subsequent activation of projection neurons that transmit the information to supraspinal brain areas. Activity of excitatory and inhibitory interneurons, glial cells and descending pathways from the CNS are also important for the modulation of nociceptive information at the spinal cord level. After peripheral tissue damage and in other pathological states, increased sensitivity to peripheral stimuli may develop. As results of this change innocuous stimuli are perceived as painful (alodynia) and increased pain is perceived after noxious stimuli (hyperalgesia). The underlying mechanisms of these changes may be both peripheral and central. This paper reviews the basic information about processing of nociceptive inputs at the spinal cord level. Understanding and study of these mechanisms is important for the development of new effective analgesics.

Key words: pain, nociception, peripheral afferent fiber, spinal cord, dorsal horn, alodynia, hyperalgesia.

OBSAH

1. SEZNAM ZKRATEK POUŽITÝCH V TEXTU	5
2. ÚVOD	6
3. NOCICEPCE A BOLEST	6
4. KLASIFIKACE BOLESTI	7
4.1. DĚLENÍ DLE DOBY TRVÁNÍ	7
4.2. DĚLENÍ DLE MECHANISMU VZNIKU	8
4.3. DĚLENÍ DLE MÍSTA, KDE JE BOLEST INDUKOVÁNA	8
5. FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM NOCICEPCE A BOLESTI	9
6. STRUKTURY ZAPOJENÉ V PERCEPCI BOLESTI NA MÍŠNÍ ÚROVNI	10
6.1. PERIFERNÍ AFERENTNÍ VLÁKNA (PAF)	10
6.2. SPINÁLNÍ GANGLIA	13
6.3. MÍCHA	15
6.3.1. ŠEDÁ HMOTA MÍŠNÍ	15
6.4. GLIOVÉ BUŇKY	16
7. MODULACE NOCICEPCE V ZADNÍM ROHU MÍŠNÍM	18
7.1. EXCITAČNÍ AMINOKYSELINY A JEJICH RECEPTORY	19
7.2. NĚKTERÉ NEUROPEPTIDY DŮLEŽITÉ V MODULACI NOCICEPCE	20
7.3. DALŠÍ NEUROMODULÁTORY DŮLEŽITÉ V MODULACI NOCICEPCE	23
7.4. INHIBIČNÍ MECHANISMY V DH	26
7.5. SUPRASPINÁLNÍ STRUKTURY MODULUJÍCÍ NOCICEPCI V DH	29
7.6. CENTRÁLNÍ SENZITIZACE A DLOUHODOBÁ POTENCIACE NA MÍŠNÍ ÚROVNI	31
8. ZÁVĚR	34
9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	35

1. SEZNAM ZKRATEK POUŽITÝCH V TEXTU

[K⁺]_o	Potassium concentration (outside)	Extracelulární koncentrace draslíku
5-HT	5-hydroxytryptamine (serotonin)	5-hydroxytryptamin (serotonin)
AC	Adenylate cyclase	Adenylát cykláza
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxasole propionová kyselina
AR	Adrenergic receptor	Adrenergní receptor
ATP	Adenosine triphosphate	Adenosintrifosfát
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	Mozkový nervový růstový faktor
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	Cyklický adenosinmonofosfát
CCK	Cholecystokinin	Cholecystokinin
cGMP	Cyclic guanosine monophosphate	Cyklický guanosinmonofosfát
CGRP	Calcitonin gene-related peptide	Peptid, odvozený z genu pro kalcitonin
CMHs	Mechanically and heat sensitive C fibers	Mechano- a termosenzitivní C vlákna
CNS	Central nervous system	Centrální nervový systém
COX	Cyclooxygenase	Cyklooxygenáza
DAG	Diacylglycerol	Diacylglycerol
DC	Dorsal column	Zadní provazce bílé hmoty míšni
DH	Dorsal horn	Zadní roh míšni
DRG	Dorsal root ganglion	Ganglion zadního rohu míšního
EPSC	Excitatory postsynaptic current	Excitační postsynaptický proud
GABA	γ -aminobutyric acid	γ -aminomáselná kyselina
GABA_AR	Ionicotropic GABA receptor	Iontropní GABA receptor
GABA_BR	Metabotropic GABA receptor	Metabotropní GABA receptor
GAL	Galanin	Galanin
GC	Guanylate cyclase	Guanylát cykláza
GDNF	Glial cell-line derived neurotrophic factor	Gliální nervový růstový faktor
GlyR	Glycine receptor	Glycinový receptor
HTM	High threshold mechanical nociceptors	Vysokoprahové mechanonociceptory
IASP	International Association for the Study of Pain	Mezinárodní asociace pro studium bolesti
IL-1β	Interleukin-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6	Interleukin-6
IN	Interneurone	Interneuron
IP₃	Inositol 1,4,5-trisphosphate	Inositol-1,4,5-trifosfát
IPSC	Inhibitory postsynaptic current	Inhibiční postsynaptický proud
KIR3 / GIRK	Potassium inwardly-rectifying channel	„Dovnitř usměrňující“ draslíkový kanál
LTP	Long-term potentiation	Dlouhodobá / long-term potenciace
mGluR	Metabotropic glutamate receptor	Metabotropní glutamátový receptor
NA	Noradrenaline	Noradrenalin
NGF	Nerve growth factor	Nervový růstový faktor
NMDA	N-methyl-D-aspartate	N-methyl-D-aspartát
NMR	Nucleus raphe magnus	Jádro raphe magnus
NO	Nitric oxide	Oxid dusnatý
NON-N	Non-nociceptive	Nepodílející se na nocicepci
NOS	Nitric oxide synthase	Syntáza oxidu dusnatého
NS	Nociceptive specific	Nociceptivně specifický
PAF	Peripheral afferent fiber	Periferní dostředivé vlákno
PAG	Periaqueductal gray	Periaqueduktální šed'
PG	Prostaglandin	Prostaglandin
PIP₂	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát
PKA	Protein kinase A	Protein kináza A
PKC	Protein kinase C	Protein kináza C
PKG	Protein kinase G	Protein kináza G
PLA₂	Phospholipase A ₂	Fosfolipáza A ₂
PLC	Phospholipase C	Fosfolipáza C
PN	Projection neuron	Projekční neuron
RVM	Rostral ventromedial medulla	Rostroventrální medulla
SGC	Satellite glial cell	Satelitní gliová buňka
TNF-α	Tumor necrosis factor- α	Nádory nekrotizující faktor- α
TrkA/B	Receptor tyrosine kinase A/B	Tyrosin kinázový receptor A/B
TRPV1	Transient receptor potential vanilloid 1	Vaniloidní receptor TRPV1
WDR	Wide dynamic range	S „širokým dynamickým rozsahem“

2. ÚVOD

Bolest je složitý senzorický a emocionální vjem, který je součástí naší smyslové výbavy. Přestože je bolest doprovázena nepříjemnými pocity, přináší člověku obvykle prospěch. Je totiž součástí ochranných mechanismů, které nás varují před hrozícím poškozením našich tkání. Je tedy nutná pro přežití organismu.

Avšak ne vždy plní bolest svou fyziologickou funkci. Chronická či neuropatická bolest již nemá s ochranným mechanismem nic společného, nepřináší jedinci žádný prospěch, ba naopak mu škodí a je sama považována za onemocnění.

Bolest je již po staletí studována ve snaze nalézt prostředky / analgetika, kterými by se dala nežádoucí patologická bolest a s ní spojené utrpení, účinně potlačovat. V současnosti sice existuje mnoho látek, kterými se dá bolest tlumit, avšak ani moderní medicína si neví rady se všemi typy bolestí. Proto je dobré bolest studovat a pokoušet se objasnit jednotlivé mechanismy, spojené se vznikem a přetrváváním patologických bolestí. Nové poznatky mohou přispět k vývoji léčiv účinných při stavech, kdy současné postupy léčby nestačí, nebo léčiv s menšími vedlejšími účinky.

Asi nejlépe prostudované oblasti, co se vzniku bolesti a její modulace týká, jsou periferní aferentní vlákna a oblast zadního rohu míšního.

Tato bakalářská práce si klade za cíl, v prvních kapitolách nejprve shrnout obecné poznatky týkající se nocicepce na periférii a na míšní úrovni. Následně bude popsán význam a mechanismy působení některých neurotransmiterů a neuromodulátorů v modulaci synaptického přenosu při bolestivých stavech, s důrazem na oblast zadního rohu míšního.

3. NOCICEPCE A BOLEST

Pojem nocicepce je odvozen z latinského *nocere* = „škodit / ublížit“. Nocicepce je neurální proces, zahrnující transdukcí / převodní mechanismy, jimiž volná nervová zakončení primárních senzoričtých neuronů detekují a přenášejí informaci o škodlivých stimulech do CNS.

Mezinárodní asociace pro studium bolesti (International Association for the Study of Pain; IASP) definuje nociceptory, jako „*vysokoprahové senzoričtější receptory periferního nervového systému, které jsou schopné detekovat a přenášet informace o škodlivých podnětech*“ (IASP, 2011).

V případě bolesti je definice dle IASP (1979) následující: „*bolest je nepříjemná senzoričtější a emocionální zkušenost, spojená se skutečným nebo potencionálním poškozením tkáně, nebo je popisována výrazy takového poškození*“. Tato definice znamená, že bolest není jen senzoričtější proces, ale také citově subjektivní fenomén, který ovlivňuje rozmanité fyziologické, psychické a emocionální procesy. Bolest nelze zcela objektivně posuzovat. Neschopnost vyjádřit se a sdělit své pocity nepopírá možnost, že je bolest pociťována.

O tom, že bolest je čistě subjektivní záležitostí vypovídá i skutečnost, že každý jedinec má jiný, individuální práh pro bolest. Hodnota prahu vyplývá mimo jiné z osobních zkušeností jedince a síla bolestivého stimulu vždy nemusí přesně odpovídat intenzitě pociťované bolesti.

Bolest je pociťována obvykle tehdy, jsou-li nociceptory podrážděny poškozujícím či potencionálně poškozujícím stimulem, ale může ji způsobit i přímé poranění sensorických vláken, nebo poranění v různých oblastech CNS. Patologická bolest však může vznikat i bez vyvolávajícího podnětu nebo při stimulech běžně nebolestivých.

Všechny smyslové systémy, včetně toho nocicepčního, musí nejprve převést podněty z vnějšího prostředí na elektrochemické signály. V případě zraku nebo čichu detekují primární smyslové neurony pouze jeden typ signálu (světlo či chemický odorant). V tomto ohledu je nocicepce výjimečná, neboť jednotlivé primární sensorické neurony zprostředkovávající bolest mají pozoruhodnou schopnost rozlišovat celou řadu fyzikálních a chemických stimulů. Polymodální nociceptory jsou vybaveny rozmanitým repertoárem transdukčních mechanismů, které umožňují, že jeden nociceptor může současně zaznamenávat a integrovat chemické i fyzikální podněty. Díky tomu může buňka efektivně integrovat informace a odpovídat na komplexní změny ve fyziologickém prostředí (Julius a Basbaum, 2001).

Nocicepce však, na rozdíl od bolesti, nevyžaduje kognitivní a emoční zpracování v mozku. Proto také nelze nocicepci popisovat jako „prožitek“.

Někteří autoři používají označení „nociceptor“ jen pro periferní nervová zakončení sensorických neuronů. Jindy jsou za nociceptory považovány celé primární sensorické neurony podílející se na přenosu nociceptivní informace. Například Wolf a Ma (2007) popisují nociceptory jako komponenty, sestávající ze čtyř hlavních částí. V *periferních nervových zakončeních* se transdukčními mechanismy převádí signál z vnějšího prostředí do akčního potenciálu, *axon* je zodpovědný za vedení akčního potenciálu, *tělo* neuronu kontroluje identitu a integritu neuronu a *centrální zakončení* je presynaptickým elementem první synapse na sensorické dráze v CNS.

4. KLASIFIKACE BOLESTI

Význam slova „bolest“ je velmi široký. Běžně se používá pro všechny nepříjemné a bolestivé pocity, nehledě na to, jak dlouho přetrvávají či jaké konkrétní mechanismy jsou zodpovědné za jejich vznik. Pro zpřehlednění situace je výhodné bolest rozdělit podle několika hledisek.

4.1. DĚLENÍ DLE DOBY TRVÁNÍ

Akutní bolest vzniká na nociceptorech. Je vyvolaná v přímé souvislosti s poškozením tělesné tkáně úrazem, chorobou nebo operačním zákrokem. Její trvání je krátkodobé, v horizontu sekund.

Subchronická bolest trvá v řádu hodin až dnů. Po obnovení celistvosti organismu, např. po zhojení zanícené rány obvykle vymizí.

Chronická bolest oproti tomu může působit bez zjevné příčiny, nebo je vzhledem k příčině neúměrně veliká. Její trvání je dlouhodobé, obecně se za chronickou bolest považuje bolest trvající déle jak 3 až 6 měsíců (Millan, 1999).

4.2. DĚLENÍ DLE MECHANISMU VZNIKU

Nociceptivní bolest vzniká pouze podrážděním vysokoprahových nociceptorů poškozujícím či potencionálně poškozujícím podnětem.

Zánětlivá bolest se objevuje při zánětu, infekci, ale také při nádorovém růstu či ischemii. Vyvolávají ji látky uvolňované z poškozených a imunitních buněk.

Neuropatická bolest není vyvolána dráždění nociceptorů. Primárně ji způsobuje přímo poškození či onemocnění nervového systému a v závislosti na lokalizaci tohoto poškození se neuropatická bolest dělí na **periferní** a **centrální** (Scholz a Woolf, 2002). Toto poškození může vést k hyperexcitabilitě některých neuronů, které pak odpovídají i na běžně nebolestivé podněty, nebo odpovídají na bolestivé podněty nepřiměřeným způsobem. To je případ alodynii a hyperalgezie (Woolf, 2004). Při **alodynii** se snižuje práh pro bolest. Bolest je pak vyvolávána i běžně nebolestivými, tkáň nepoškozujícími stimuly. **Hyperalgezie** je stav, kdy dochází ke zvýšené bolestivé odpovědi na poškozující, či potenciálně poškozující podněty. Při hyperalgezi tedy nedochází ke změně kvality cití, jako tomu je u alodynii (Millan, 1999).

V souvislosti s neuropatickou bolestí je vhodné zmínit plasticitu bolesti. Za určitých okolností, např. při patologickém dlouhodobém působení látek, které podporují vznik a vedení nociceptivní informace, může u drah vedoucích bolest docházet k změnám jejich vlastností. Tyto změny jsou následně jedním z mechanismů, zodpovědných za vznik neuropatické bolesti. Nociceptivní informace může být různými mechanismy zpracovávána a modulována v podstatě kdekoli během svého přenosu, od místa svého vzniku na periférii, až do okamžiku zpracování v CNS. Nejvýznamnějším místem, kde k modulaci dochází, je oblast zadního rohu míšního (DH). Na modulaci vzniku akčního potenciálu v periférii, nebo modulaci synaptického přenosu v CNS se vedle samotných neuronů mohou podílet i gliové buňky a buňky imunitního systému, které produkcí rozličných neuromodulátorů a stresových hormonů modulují nocicepci zejména při zánětu a poškození celistvosti organismu (Woolf, 2004; Woolf a Ma, 2007). Neuroplastické změny, vyvolané v nervových zakončeních periferních dostředivých vláken nazýváme periferní senzitivizací, pokud ke změnám dochází v míše či mozku, hovoříme o centrální senzitivizaci (Bradesi, 2010).

4.3. DĚLENÍ DLE MÍSTA, KDE JE BOLEST INDUKOVÁNA

Dle tohoto kritéria lze bolest rozdělit na somatickou a viscerální. Za **somatickou** se považuje bolest, vycházející z kůže, svalů a stěn tělesných dutin (hrudní a břišní stěny), zatímco **viscerální bolest** je indukována v útrokách uložených v tělesných dutinách.

Většina poznatků o nocicepci a bolesti pochází ze studií zabývajících se somatickou, nikoliv viscerální bolestí. Tradiční pohled vycházel z přesvědčení, že viscerální bolest je jen typem somatické bolesti a jediný neurobiologický mechanismus je zodpovědný za všechny typy bolesti. S tím jak se hromadí experimentální poznatky, ukazuje se, že přes mnoho společných rysů je mezi somatickou a viscerální bolestí mnoho významných rozdílů a poznatky získané ze studia somatické bolesti nelze jednoduše extrapolovat na viscerální. (Cervero a Laird, 1999).

Při vedení somatické a viscerální bolesti se uplatňují různé míšňí dráhy. Jsou-li somatické nociceptory vystaveny nadprahové stimulaci, vzniklý akční potenciál se šíří po axonech periferních aferentních vláken (PAF), která se napojují na neurony druhého řádu v šedé hmotě zadního rohu míšňího (DH). Ascendentní / vzestupná spinothalmická a spinoretikulární dráha pak předávají informaci o bolesti do mozku, kde je signál zpracován talamem a odeslán do kůry (Steeds, 2009). V případě viscerálních nociceptorů je mechanismus přenosu podobný, avšak při přenosu informace se mimo jiné uplatňuje také dráha zadních provazců míšňích (DC) (Paleček, 2004), spino(trigemino)-parabrachio-amygdalární dráha a spinohypotalamická dráha (Cervero a Laird, 1999).

Přesné mechanismy fungování viscerální bolesti se liší jak od somatické bolesti, tak dokonce i mezi jednotlivými orgány a orgánovými soustavami. Společné znaky různých typů viscerální bolesti, které ji odlišují od somatické, jsou kromě rozdílů na úrovni periferních aferentních vláken, také ve vnímání a zpracování viscerální bolesti ve vyšších strukturách CNS. Viscerální bolest má pět důležitých klinických charakteristik: 1.) Není ji možné vyvolat ve všech vnitřnostech. Játra, ledviny nebo plicní parenchym nejsou citlivé na bolestivé stimuly, neboť nejsou inervovány patřičnými senzory. 2.) Není vždy spojena s viscerálním zraněním. Řezná rána střeva nepůsobí bolest, jeho nadměrné roztažení ano. 3.) Je difusní a těžko lokalizovatelná. To je způsobeno nízkým počtem viscerálních PAF v porovnání se somatickou inervací. 4.) Může se projevat na jiných místech (přenesená bolest). 5.) Může být doprovázena motorickými a vegetativními reflexy, jako je nevolnost, zvracení, pocení či svalová ztuhlost (Cervero a Laird, 1999, Paleček a kol., 2006).

5. FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM NOCICEPCE A BOLESTI

Pro organismy je velice žádoucí přítomnost mechanismů, díky kterým se mohou vyhýbat škodlivým podnětům v prostředí. Jeden z mechanismů, který umožňuje rozlišovat mezi neškodnými a poškozujícími podněty spočívá v tom, že nociceptory jsou, na rozdíl od nízkoprahových mechanoreceptorů, zejména vysokoprahové a normálně odpovídají pouze na stimuly s dostatečnou energií na potenciální či skutečné poškození tkáně (Woolf a Ma, 2007).

Důležitost bolesti vynikne, srovnáme-li běžné jedince s jedinci, kteří mají vrozenou poruchu ve vnímání bolesti, tzv. kongenitální analgezii / necitlivost k bolesti. U jedinců s necitlivostí dochází k častějšímu poškození tkání. Tito jedinci také častěji umírají už v dětství (Nagasako a kol., 2003). Existují dokonce i případy sebepoškození u dětí, kdy např. došlo k ukousnutí 1/3 jazyka

(Berkovitch a kol., 1998). Tyto poruchy jasně naznačují, že vnímání bolesti má zcela nepostradatelný význam pro přežití organismu.

Fenomén nocicepce není rozhodně omezen pouze na vyšší živočichy. Studium nocicepce u různých modelových organismů prokázalo, že existují podobnosti od bezobratlých po člověka. Nociceptivní systém bezobratlých sice není tak komplexní a rozmanitý jako u savců, ale rovněž účinně umožňuje odhalit a vyhýbat se potenciaálně nebezpečným podnětům v prostředí. Nociceptivní systém u savců se od bezobratlých liší zejména přítomností myelinizovaných $A\beta$ a $A\delta$ vláken a nemyelinizovaných polymodálních C vláken, která umožňují zároveň detekovat více stimulů (chemické, fyzikální, tepelné) (Smith a Lewin, 2009).

U bezobratlých živočichů nemůžeme mluvit o bolesti ve stejném smyslu jako u obratlovců. Jejich signální dráhy lze ale považovat za evoluční předstupeň nociceptivních drah obratlovců (Julius a Basbaum, 2001).

Není ale vyloučeno, že i někteří bezobratlí pociťují pocity, které u vyšších obratlovců nazýváme bolest. Pokusy na krevetě *Palaemon elegans* naznačují, že i u vyšších korýšů (Decapoda) existuje uvědomění si škodlivých podnětů, ze kterého plyne dlouhodobá péče o chemicky nebo mechanicky postižené místo. Toto chování je jistě složitější než pouhý reflex, neboť vyžaduje vyšší zpracování (Barr a kol., 2008).

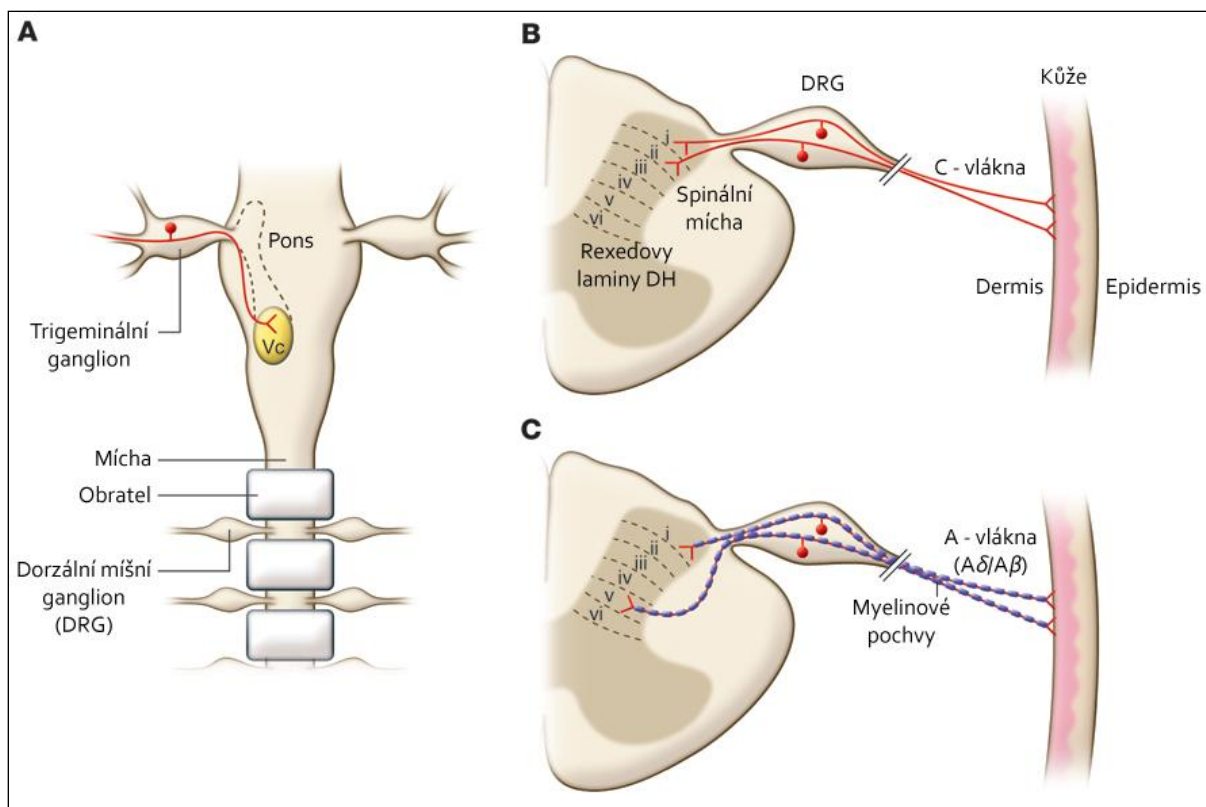
6. STRUKTURY ZAPOJENÉ V PERCEPCI BOLESTI

6.1. PERIFERNÍ AFERENTNÍ VLÁKNA (PAF)

Jako PAF se označují výběžky primárních sensorických pseudounipolárních neuronů s těly buď: 1.) v dorzálních spinálních gangliích (DRG), které inervují tělo, nebo 2.) v *ganglion trigeminale* trojklaného hlavového nervu, které inervují oblast hlavy. Dojde-li v periferním zakončení pseudounipolárního neuronu k nadprahové stimulaci, vedou PAF tuto informaci do zadního rohu míšního (DH). Zde se informace na synapsích s neurony DH zpracovává, moduluje a dál přenáší. V případě trojklaného hlavového nervu je informace prostřednictvím PAF vedena do Varolova mostu, struktury mozkového kmene (Dubin a Patapoutian, 2010).

K sensorickým PAF patří $A\alpha$, $A\beta$, $A\delta$ a C vlákna. Funkcí $A\alpha$ vláken je přenos informací ze svalových vřetének a Golgiho šlachového tělíska do CNS. Tato vlákna se nepodílí na vedení bolestivých vjemů. $A\beta$ slouží jako mechanoreceptory, běžně bolest také nevedou. S funkcí nociceptorů jsou spojována $A\delta$ a C vlákna.

U savců je to kůže, která se nejčastěji setkává s potenciaálně škodlivými podněty, a proto jsou kožní PAF asi nejdůležitější prozkoumána (Smith a Lewin, 2009). PAF uplatňující se na vedení podnětů z kůže (*Obrázek 1*), dělíme podle průměru vlákna, rychlosti vedení informace a myelinizace na $A\beta$, $A\delta$ a C vlákna (*Tabulka 1*).



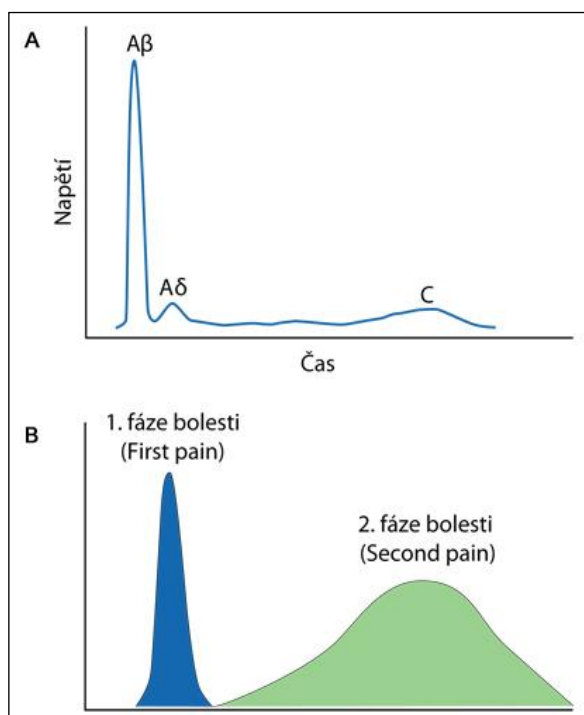
Obrázek 1. Anatomie kožních nociceptorů. **(A)** Somatosenzorické neurony jsou lokalizovány v periferních gangliích (trigeminální a dorzální míšní ganglion). Aferentní neurony projikují centrálně buď do mozkového kmene (Vc, trigeminální sensorické subnucleus caudalis), nebo do šedé hmoty DH spinální míchy. Periferní části PAF vedou do kůže a jiných orgánů. **(B)** Nemyelinizovaná C vlákna. Periferní zakončení vychází z dermis a/nebo epidermis. Centrální výběžky vedou zejména do povrchových lamin I a II dorzálního rohu míšního. **(C)** A vlákna jsou myelinizovaná. Obvykle jsou nocicepční podněty vedeny A δ vlákny. Centrální výběžky A δ vláken končí především v povrchových laminách I a V (Převzato a upraveno dle: Dubin a Patapoutain, 2010).

Typ vlákna:	Průměr:	Myelinizace:	Vodivost
A β	Silná (>10 μm)	Ano, silně	Vysoká (30-100 m.sec ⁻¹)
A δ	Středně silná (2-6 μm)	Ano, tence	Středně vysoká (12-30 m.sec ⁻¹)
C	Slabá (0,4-1,2 μm)	Ne	Nízká (0,5-2 m.sec ⁻¹)

Tabulka 1. Vlastnosti kožních PAF (Millan, 1999).

Z tabulky je patrné, že rychlost vedení je závislá na síle vlákna a přítomnosti izolující myelinové pochvy. Procentuální zastoupení jednotlivých vláken v kůži je následující: A β 20%, A δ 10% a C 70%. Za normálních fyziologických podmínek mohou všechny tři typy přenášet informace, které nesouvisí s nocicepcí, ale pouze A δ a C vlákna přenášejí nociceptivní informaci (Millan, 1999).

U somatické bolesti můžeme rozlišovat dvě fáze bolesti (Obrázek 2). První fáze je zprostředkována aktivací A δ vysokoprahových mechano-nociceptorů a/nebo A δ termo-nociceptory, zatímco za druhou fázi bolesti jsou zodpovědná polymodální C vlákna (Price a Dubner, 1977).



Obrázek 2. (A) Složený akční potenciál, vyvolaný drážděním periferního nervu. **(B)** Uplatnění konkrétních PAF v jednotlivých fázích bolesti (Převzato a upraveno dle: Julius a Basbaum, 2010).

Bolest zprostředkovaná A δ vlákny je rychlá a ostrá, C vlákna vedou pomalou, tupou a dlouhotrvající bolest. Viscerální bolest je jedinečná v tom, že se u ní nevyskytuje první (rychlá) a druhá (pomalá) fáze. Místo toho je často špatně lokalizovatelná, hluboká a tupá (Julius a Basbaum, 2001).

Jelikož kůže nejčastěji přímo interaguje s okolním prostředím, je doslova protkána mnoha mechanoreceptory s rozličnými vlastnostmi a

funkcemi, z nichž některé se uplatňují při nocicepci.

První skupinou jsou silná myelinizovaná A β vlákna, která jsou u člověka a myši obvykle spojena s nízkoprahovými mechanoreceptory. Jsou dva typy těchto vláken: RA (rapidly adapting) rychle se adaptující a SA (slowly adapting) pomalu se adaptující mechanoreceptory (Lewin a Moshourab, 2004).

Druhou skupinu tvoří receptory se slabě myelinizovanými A δ vlákny středního průměru. Patří sem nízkoprahové D-hair (vlasové) receptory, což jsou mj. nejcitlivější zjištěné mechanoreceptory, a vysokoprahové A-mechanonociceptory odpovídající na mechanické a tepelné podněty silné intenzity. Periferní konce A-mechanonociceptorů se označují jako volná nervová zakončení (Lewin a Moshourab, 2004). A-mechanonociceptory lze dále dělit na dva typy: A δ typu I (HTM) jsou vysokoprahové a odpovídají na mechanické a chemické podněty, ale mají relativně vysoký práh k tepelným podnětům (> 50°C). V případě, že tento tepelný podnět přetrvává delší dobu, stane se toto PAF citlivějším. V důsledku této senzitivace odpovídá i na podněty nižší teploty. Citlivost A δ typu I se rovněž zvyšuje při poškození tkáně. A δ typu II mají velmi vysoký mechanický práh, ale v porovnání s typem I mnohem nižší tepelný práh. Typ II tedy zprostředkovává první „rychlou“ akutní bolest, vyvolanou škodlivým teplem, zatímco typ I bolest vyvolanou silným mechanickým podnětem (Basbaum a kol., 2009).

Třetí velkou skupinou jsou nemyelinizovaná pomalu vedoucí C vlákna, jejichž periferní konce se označují stejně, jako u A-mechanonociceptorů, volná nervová zakončení. C vláken je mnoho typů a jsou jak nízkoprahová, tak vysokoprahová. Ta C vlákna, která umožňují reagovat zároveň na širokou škálu podnětů (teplota, chlad, mechanické a chemické stimuly), se označují jako polymodální (Lewin a Moshourab, 2004). Polymodální vlákna citlivá především na mechanické a tepelné podněty označujeme CMHs. Zvláštním typem jsou mechanicky necitlivá, ale tepelně a chemicky citlivá vlákna.

Jsou to tzv. „tiché / spící“ (silent) nociceptory. V porovnání s CMHs více odpovídají na chemické podněty (histamin, kapsaicin) (Basbaum a kol., 2009).

Spící nociceptory byly nalezeny ve všech studovaných tkáních, včetně lidské kůže a normálně neodpovídají na akutní poškozující podněty. Po aktivaci mediátory zánětu se však stanou citlivé i na slabé mechanické podněty. Např. spící nociceptory ve střevě potkana nereagují ani na vysokou intenzitu roztažení, způsobenou kolorektální distenzí (CRD). Po aplikaci hořčičného oleje, který vyvolává zánět, se spící nociceptor stává aktivním a citlivým i k mechanickým stimulům, na které do té doby nereagoval (Gebhart, 2000).

Polymodální receptory se nevyskytují jen v kůži, ale např. i v gastrointestinálním traktu, kde jsou chemo-, termo- i mechanosenzitivní zakončení. Duté orgány, jako je močový měchýř nebo tlusté střevo, jsou inervovány dvěma populacemi mechanosenzitivních PAF. Větší skupinu, 70-80% tvoří nízkoprahová zakončení, 20-30% tvoří vysokoprahová zakončení (Gebhart, 2000).

PAF vedoucí nociceptivní podněty v jiných tkáních se mohou od těch kožních v mnohých charakteristikách výrazně lišit. Např., PAF rohovky snímají jako bolestivé podněty i neškodné hmatové stimulační. V zubech je většina stimulů pocíťována jako bolest. Viscerální bolest nemusí vznikat jen přímým poškozením tkáně, ale může ji způsobit také např. nadměrné roztažení tlustého střeva nebo močového měchýře (Julius a Basbaum, 2001).

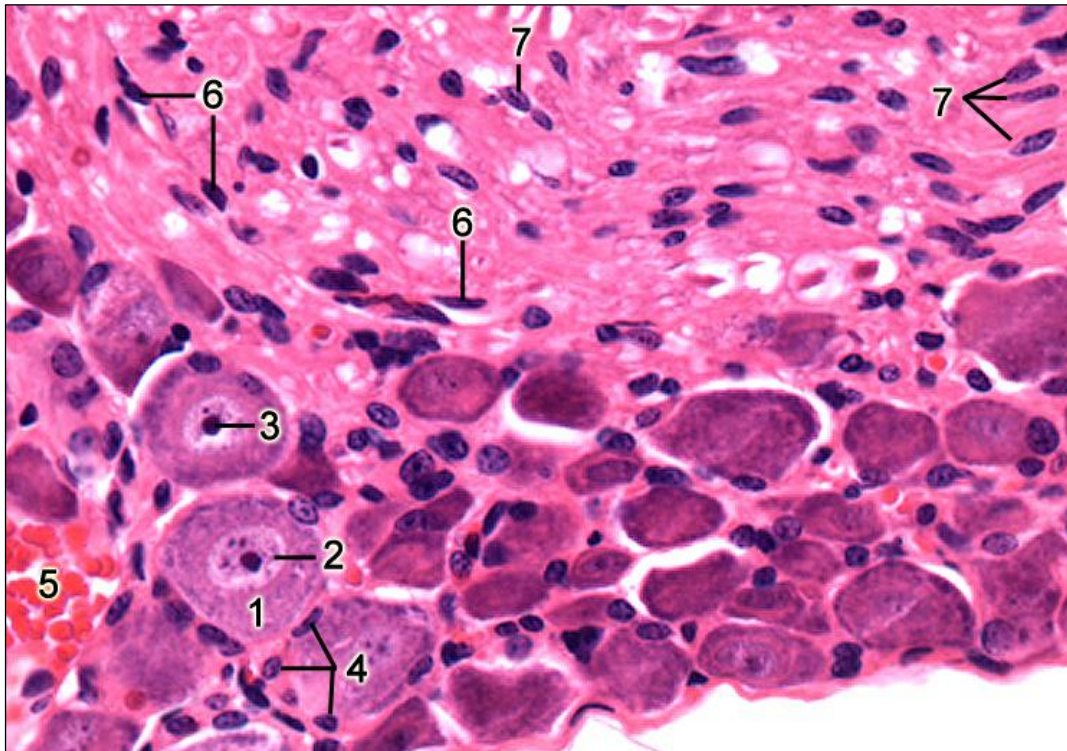
Viscerální senzory PAF jsou výlučně typu A δ a C. Aktivitu většiny senzoryckých neuronů, ať už vagových aferentních či spinálních aferentních si ale vůbec neuvědomujeme. Jde např. o vstupy od chemoreceptorů v žaludku a játrech, či aortálních baroreceptorů. V kontrastu k somatickým PAF, počet viscerálních PAF se odhaduje na méně než 10% z celkového množství vstupů PAF do míchy. Jako kompenzace tohoto relativního nedostatku může sloužit větší rostrokaudální rozšíření terminálních zakončení, v případě C vláken i vyšší počet terminálních zakončení viscerálních PAF v inervovaných tkáních (Gebhart, 2000).

6.2. SPINÁLNÍ GANGLIA (DRG)

Spinální ganglia jsou uzlovité struktury periferní nervové soustavy, kde jsou uložena těla pseudounipolárních senzoryckých neuronů. Jejich umístění vůči míše je patrné na *Obrázku 1*. výše.

Každý pseudounipolární neuron je obklopen vrstvou satelitních buněk, které mu poskytují strukturální a metabolickou podporu. V DRG se kromě těl a výběžků neuronů nachází také Schwanovy buňky, tukové buňky, vazivo a krevní cévy (*Obrázek 3*).

Pseudounipolární neurony se svou stavbou odlišují od klasického učebnicového neuronu, neboť u nich nenacházíme dendrity. Pseudounipolární neuron je zvláštní typ bipolárního neuronu. Během vývoje se oba výběžky embryonální, původně bipolární buňky spojují a vychází z buňky jako jediný výběžek. V různé vzdálenosti od těla buňky se výběžek opět větví ve dva (ve tvaru písmene T). Oba pak fungují jako axony, kdy jeden vede do periferie a druhý do CNS (Kandel a Schwartz, 1985).



Obrázek 3: Histologický řez spinálním gangliem myši (zvětšeno 40x). **1.)** tělo pseudounipolárního neuronu; **2.)** jádro; **3.)** jadérko; **4.)** satelitní buňky; **5.)** krvinky uvnitř cévy; **6.)** fibroblasty; **7.)** Schwanovy buňky (Převzato a upraveno dle: TEXAS HISTOPAGES, Inc. Atlas of Laboratory Mouse Histology (online), 2004).

V endoplasmatickém retikulu, v tělech neuronů spinálních a trigeminálních ganglií, dochází k syntéze většiny bílkovin, které jsou pak ve váčcích distribuovány do centrálního i periferního zakončení (Basbaum a kol., 2009).

Velikost těla neuronu souvisí s průměrem PAF. U neuronů se silným vláknem a s myelinovou pochvou ($A\beta$) je tělo o velkém průměru. Neurony se středně silným vláknem ($A\delta$) mají těla středního průměru, neurony s nejslabšími vlákny bez myelinové pochvy (C) mají tělo o nejmenším průměru (Lewin a Moshourab, 2004).

Buňky s malým průměrem těla a s C vlákny lze rozdělit dle fyziologických a biochemických odlišností na tzv. „peptidergní“ a „non-peptidergní“ (Hunt a Rossi, 1985).

V tělech „peptidergních“ neuronů se syntetizují neuropeptidy SP (substance P) a CGRP (peptid odvozený z genu pro kalcitonin), dále tyto buňky exprimují receptor TrkA, což je vysoce afinní tyrozin kinázový receptor pro nervový růstový faktor (NGF). Druhý typ, „non-peptidergní“ neurony exprimují lektin IB4, vázající α -D-galactosyl, dále P2X₃ receptor (typ purinerního iontového kanálu, otvíraného adenosintrifosfátem) a receptor tyrozin kinázu RET, která je citlivá ke GDNF, což je gliální nervový růstový faktor (Julius a Basbaum, 2001; Snider a McMahon, 1998).

Rozdíl mezi oběma typy neuronů je také v lokalizaci centrálních zakončení v DH. Peptidergní neurony mají své centrální výběžky v lamině I a vnější (outer) lamině II_o, zatímco non-peptidergní neurony mají výběžky především ve vnitřní (inner) lamině II_i (Snider a McMahon, 1998).

6.3. MÍCHA

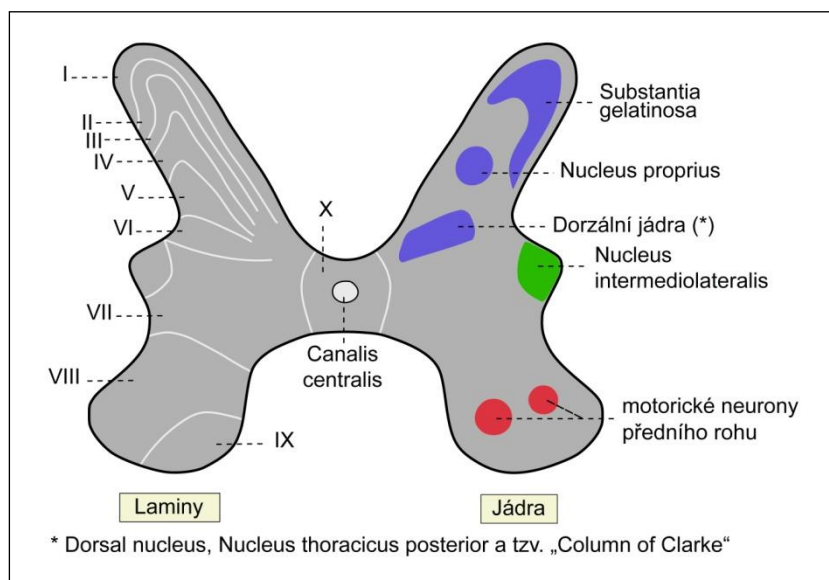
Mícha, lat. *medulla spinalis*, je nervová trubice uložená v páteřním kanálu (*canalis vertebralis*). Nevyplnjuje jej však celý. V úrovni bederních obratlů L1 a L2 mícha končí, a páteřní kanál dále vyplňuje *cauda equina*, což jsou už jen volné přední a zadní kořeny míšň. Na povrchu míchy jsou tři míšň obaly, směrem od povrchu to jsou: *dura mater*, *arachnoidea* a *pia mater*.

Periferní hmota míchy je tvořena bílou hmotou, tedy především myelinizovanými výběžky neuronů a gliovými buňkami, zatímco šedá hmota, uložená centrálně, sestává především z těl neuronů.

6.3.1. ŠEDÁ HMOTA MÍŠNÍ

Na příčném řezu má šedá hmota tvar motýlích křídel. Uprostřed šedé hmoty se nachází míšň kanálek (*canalis centralis*), vyplněný mozkomíšň moky. Ve ventrálních rozích jsou umístěna těla motorických neuronů, jejichž axony odstupují ventrálními kořeny do spinálního nervu. Zadními kořeny míšňmi vstupují do dorzálních rohů axony PAF a vytváří se zde první synapse s neurony CNS. U zdravého jedince nociceptivní podněty zprostředkovávají A δ a C vlákna, avšak při patologických stavech se na vzniku bolestivých stavů mohou podílet i silná myelinizovaná A β vlákna.

Na počátku padesátých let publikoval Bror Rexed práci, ve které šedou hmotu v míše kočky rozděluje do deseti vrstev / lamin, označených římskými čísly. Jednotlivé laminy jsou definovány na základě odlišné buněčné struktury a hustoty neuronů (*Obrázek 4*) (Rexed, 1952).



Obrázek 4: Organizace šedé hmoty míšň. Na levé straně jsou znázorněny laminy I - X dle Rexeda (1952), vpravo jsou zobrazena jádra (Převzato a upraveno dle: Rexed laminae. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online], 2012.)

Většina A δ zakončení inervuje neurony druhého řádu v lamině I (*nucleus marginalis*), u C vláken se většina nervových zakončení nachází ve vnější lamině II_o (*substantia gelatinosa*). Oba typy nociceptivních vláken projikují v menší míře i do dalších lamin. V případě A δ např. do lamin II_o, III, IV a V, u C také do lamin I, IV a X (Millan, 1999).

Z hlediska nocicepcy jsou nejvýznamnější ty laminy, kde se nachází synapse mezi neurony druhého řádu a centrálními výběžky A δ a C vláken.

Neurony druhého řádu v DH lze rozdělit na základě toho, do jakých oblastí projikují jejich axony. Rozlišujeme tak: projekční neurony (PN), propriospinální neurony a interneurony (IN). PN projikují až do supraspinálních struktur. Propriospinální neurony mají v rámci míchy integrační roli v komunikaci mezi různými segmenty. IN slouží jako intralaminární či intersegmentální spojky a mají zcela zásadní význam na modulaci nocicepce v DH. Podle toho, jak neurony druhého řádu v DH odpovídají na senzoričné podněty přicházející po PAF, dělíme je na 3 typy: Na nociceptivní podněty odpovídají vysokoprahové NS (nociceptive specific) neurony DH. Nízkoprahové NON-N (non-nociceptive) neurony reagují na lehké mechanické stimuly, vedené $A\beta$ vlákny. Třetím typem jsou WDR (Wide Dynamic Range) neurony. Jedná se o multireceptorové neurony, které vytváří synapse s více druhy PAF ($A\beta$, $A\delta$ i C) a reagují tedy jak na podněty nebolestivé, tak bolestivé (Millan, 1999).

WDR neurony, na kterých se integrují synapse od viscerálních i somatických vláken pravděpodobně přispívají k fenoménu přenesené bolesti (např. bolesti na hrudi při infarktu) (Basbaum a kol., 2009).

6.4. GLIOVÉ BUŇKY

Gliové buňky tvoří podpůrnou tkáň nervové soustavy. Glie se sice nepodílí na generování ani vedení akčních potenciálů, přesto mají nezastupitelnou roli. Poskytují totiž neuronům zásoby energie a zabezpečují tak jejich výživu, udržují stabilní iontové složení extracelulárního prostředí a zabezpečují imunitní ochranu.

Spinální gliové buňky se mohou rovněž podílet na modulaci nocicepce. Díky své plasticitě se významně podílejí na vzniku a udržování patologické bolesti, charakterizované zvýšenou citlivostí k běžně nebolestivým podnětům. Na aktivaci glií, ve smyslu modulace nocicepce, se podílejí neurotransmitery, jako substance P, glutamát, ATP, opioidy, chemokiny a glukokortikoidy, uvolňované z poškozených neuronů. Mezi látky, které uvolňují aktivované glie, patří především cytokiny a chemokiny, ale i ATP a NO, které zpětně působí jak na poraněné neurony, tak i na gliové buňky samotné (Bradesi, 2010; Wieseler-Frank a kol., 2004).

Mezi gliové buňky CNS patří oligodendrocyty, ependymové buňky, mikroglie a astrocyty. V periférii se nachází Schwanovy buňky a satelitní gliové buňky.

Oligodendrocyty v CNS tvoří myelinové pochvy kolem několika axonů. Jejich role v modulaci nocicepce zatím nebyla dostatečně popsána (Bradesi, 2010).

Ependymové buňky vystylají mozkové komory a *canalis centralis* v míše. Jsou zodpovědné za produkci mozkomíšního moku (v mozku tvoří *plexus chorioideus*) a svými řasinkami zabezpečují proudění mozkomíšního moku. Na nocicepci nemají přímý vliv.

Mikroglie nejsou neuroektodermálního původu jako ostatní glie, nýbrž jsou společně s makrofágy odvozeny z mesodermální zárodečné linie. Za normálních podmínek jsou rovnoměrně rozděleny v šedé hmotě míšni a mají v CNS imunokompetentní funkci. Mikroglie jsou „aktivovány“ v

podmínkách, které jsou rozpoznány jako ohrožující strukturní, či funkční integritu CNS (poranění, zánět, ischemie či průnik patogenu) (Bradesi, 2010; Millan, 1999).

Několik hodin poté, co dojde ke zranění periferního nervu, se mikroglie přesouvají do povrchových lamin DH k centrálnímu konci PAF a k tělům motoneuronů ve ventrálních rozích, jejichž axony byly také poškozeny. Aktivované mikroglie pak vylučují širokou paletu signálních molekul, včetně prozánětlivých cytokinů – interleukinu IL-1 β (IL-1 β), IL-6 a TNF α (tumor necrosis factor- α), které zesilují centrální senzitivizaci a mohou tak vyvolávat přetrvávající bolest spojenou s poraněním nervu či zánětem v periférii (Basbaum a kol., 2009; Wieseler-Frank a kol., 2004).

Významným aktivátorem mikroglíí je extracelulární adenosintrifosfát (ATP) uvolňovaný při poškození tkáně. Jak ukazují Hide a kol. (2000), ATP vazbou na purinergní receptory mikroglíí (zejména typu P2X₇) vyvolává výlev TNF α .

Podobně jako poranění nervu, také zánět, vyvolaný v periférii vede k aktivaci gliových buněk v míše. V případě zánětu je však aktivace méně intenzivní, než při přerušení nervu (Sweitzer a kol., 1999). Raghavendra a kol. (2004) ukazují, že po vyvolání zánětu v periférii jsou v DH nejprve během akutní fáze aktivovány mikroglie, které produkují IL-1 β a IL-6 a TNF α . Až následně tyto cytokiny aktivují astrocyty. Zvýšení aktivity obou typů glií a zvýšená produkce cytokinů vede k rozvoji alodynie a hyperalgezie.

Astrocyty jsou nejpočetnější typ, tvoří 40-50% glií v CNS. Mohou být aktivovány stejnými podmínkami, jako mikroglie, nebo produkty aktivovaných mikroglíí. Vytváří podpůrnou tkáň pro neurony jak po stránce anatomické, tak po stránce udržování homeostázy. Pomocí napětí'ově řízených iontových kanálů se podílejí na udržování stabilní hladiny extracelulárních iontů, odstraňují některé neurotransmitery ze synaptické štěrbin, mohou regulovat přežívání neuronů, diferenciaci, růst a formování synapsí (Bradesi, 2010).

Astrocyty se významně podílejí na snižování extracelulární koncentrace draslíku ([K⁺]_o), který se hromadí vně buňky v průběhu akčního potenciálu. Aby mohly na membránách probíhat elektrické děje, musí existovat mechanismy, které zpětně sníží [K⁺]_o na výchozí hodnoty. K vychytávání K⁺ slouží jednak prostorové pufování pomocí glií, avšak hlavním činitelem při odstraňování extracelulárního draslíku je Na⁺/K⁺ ATPázová pumpa. Není však zcela jasné, do jaké míry se na obnovení [K⁺]_o podílejí samotné astrocyty, protože Na⁺/K⁺ ATPáza je jak na membráně astrocytů (a dalších glií), tak neuronů (Xiong a Stringer, 2000).

Vychytaný draslík je pak sítí astrocytů, propojených pomocí gap junctions, „veden“ a vypouštěn do oblastí s normální či nízkou [K⁺]_o.

Astrocyty mají za normálních fyziologických podmínek hlavní význam v odstraňování glutamátu ze synaptické štěrbin. To činí prostřednictvím svého vysokoafinního glutamátového transportéru GLT-1 a glutamát-aspartátového transportéru GLAST. Výskyt těchto receptorů u zdravých jedinců nebyl prokázán na mikroglíích ani neuronech. Tento stav však není neměnný, protože za patologických podmínek (experimentálně navozeno částečným podvázáním sedacího nervu) dochází k úbytku a změnám v lokalizaci obou typů glutamátových receptorů na membránách

astrocytů, zatímco dochází k jejich expresi na mikroglíích. Nedostatečné vychytávání glutamátu, hlavního excitačního neurotransmiteru CNS astrocyty ze synaptických štěrbin, vede v DH ke změnám ve zpracování nociceptivních vstupů a zodpovídá za rozvinutí zvýšené citlivosti / hypersenzitivity k taktilním podnětům (Xin a kol., 2009).

Schwanovy buňky vytváří myelinové pochvy axonů mimo CNS. Na rozdíl od oligodendrocytů, jedna buňka tvoří pouze jednu pochvu. V okolí poškozených nervů jsou zdrojem mnoha mediátorů (PG, NGF, NO a cytokinů), kterými kontrolují fenotyp neuronů, přispívají k zánětu, ale také k regeneraci poškozených PAF (Millan, 1999).

Satelitní gliové buňky (SGC) se vyskytují v DRG, kde ohraničují těla sensorických pseudounipolárních neuronů. Jejich funkce je ekvivalentní astrocytům v CNS a i přes odlišnou morfologii sdílí s astrocyty obdobné vlastnosti. V případě poranění primárních sensorických neuronů prochází SGC změnami, v jejichž důsledku se utváří nervové změny, které vedou k vzniku neuropatické bolesti (Ohara a kol., 2009).

7. MODULACE NOCICEPCE V ZADNÍM ROHU MÍŠNÍM

Oblast zadního rohu míšního je místem prvního zpracování informace z periferie, místem komplexní integrace jak podnětů exogenního původu, které přichází po PAF, tak podnětů endogenního původu, které přicházejí po descendentních drahách ze supraspinálních oblastí. Synaptický přenos mezi PAF a projekčními neurony DH není statickým procesem, nýbrž jde o dynamickou interakci lokálních interneuronů, descendentních pro- a anti-nociceptivních drah a chemických mediátorů, uvolňovaných z neuronů a gliových buněk (Zeilhofer, 2005).

Výsledná informace, která je z DH předána vyšším centřům, je ovlivněna několika mechanismy: 1.) Kontrolou ze supraspinálních center; 2.) Aktivitou souběžných A β vláken; 3.) Modulací v rámci jednotlivých míšních segmentů (Steeds, 2009).

Mezi hlavní aktivující (excitační) neurotransmitery a neuromodulátory patří excitační aminokyseliny (glutamát, aspartát) a neuropeptidy (substance P, neurokinin A). K dalším, nocicepci modulujícím mediátorům řadíme například adenosintrifosfát (ATP), oxid dusnatý (NO), metabolity fosfolipidů - prostanoidy, cytokiny, růstové faktory (neurotrofiny – např. NGF a GDNF) a peptidy CGRP (Calcitonin gene-related peptid), bradykinin, galanin či cholecystokinin. Mezi tlumící (inhibiční) látky, podléjící se na modulaci nocicepce řadíme inhibiční aminokyseliny (kyselina γ -aminomáselná (GABA), glycin) a opioidy.

Cílem následujících podkapitol je stručně popsat význam a mechanismy působení těchto transmiterů a neuromodulátorů, a to především v kontextu modulace nocicepce na úrovni zadního rohu míšního.

7.1. EXCITAČNÍ AMINOKYSELINY A JEJICH RECEPTORY

Nejrozšířenějším excitačním neurotransmiterem v CNS je glutamát. Jako glutamát, i aspartát se váže na ionotropní či metabotropní glutamátové receptory, čímž je uvádí do aktivovaného, či aktivovatelného stavu.

Rychlý synaptický přenos bolestivých vjemů v DH je zprostředkováván presynapticky uvolňovaným L-glutamátem. Na postsynaptické membráně aktivuje řadu ligandem otvíraných receptorů, jejichž součástí je i iontový kanál. Následný vtok kladně nabitých iontů vyvolá depolarizaci a excitační postsynaptické proudy (EPSC). K ionotropním glutamátovým receptorům patří AMPA, NMDA a kainátové receptory (Zeilhofer, 2005). Pojmenování těchto receptorů je odvozeno od exogenních strukturních analogů / agonistů glutamátu. V případě AMPA receptorů jde o α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxasole propionovou kyselinou, u NMDA receptoru je to N-methyl-D-aspartát a u kainátových receptorů kainát. AMPA a kainátové receptory se často označují jako „non-NMDA“ glutamátové receptory (Coggeshall a Carlton, 1997).

AMPA receptory jsou heterotetramery, tvořené kombinací čtyř odlišných podjednotek GluR1 – 4 (Dingledine a kol., 1999). Jsou propustné především pro ionty Na^+ a K^+ , avšak byla prokázána i subpopulace buněk, exprimujících AMPA receptory propustné pro Ca^{2+} . Tyto receptory byly nalezeny v povrchových laminách I a II, pravděpodobně na projekčních neuronech. Za regulaci propustnosti pro Ca^{2+} daného typu kanálu je zodpovědná GluR2 podjednotka (Engelman a kol., 1999). AMPA receptory mají velmi rychlou kinetiku a mají tak hlavní roli v rychlém synaptickém přenosu (Millan, 1999).

Kainátové receptory jsou rovněž heterotetramery. Je známo pět podjednotek (GluR5, GluR6, GluR7, KA-1 a 2), ze kterých mohou být tyto receptory složeny (Dingledine a kol., 1999). Kainátové receptory se v DH vyskytují zcela výhradně na synapsích s vysokoprahovými, bolest zprostředkovávajícími a termosenzitivními PAF. Dráždění vysokoprahových PAF intenzivním podnětem totiž vyvolává kainátovými receptory zprostředkované EPSC v povrchových laminách DH, zatímco podráždění nízkoprahových PAF vyvolává pouze AMPA receptory zprostředkované EPSC (Li a kol., 1999).

NMDA receptory jsou tvořené kombinací podjednotek NR1, NR2A – D, a může se vyskytovat i NR3A podjednotka, jejíž funkcí je především regulace toku Ca^{2+} NMDA receptorem (Dingledine a kol., 1999). Podjednotky opět tvoří heterotetramer. NMDA receptory jsou nespecifické kationtové kanály, propustné především pro Ca^{2+} . Při klidovém membránovém potenciálu je pór NMDA kanálu blokován iontem Mg^{2+} . Pór kanálu se stává průchozím až během depolarizace membrány, kdy je Mg^{2+} -blok uvolněn. Kinetika NMDA receptorů je v porovnání s AMPA receptory pomalá (Millan, 1999). NMDA receptory mají také vazebné místo pro glycin, který vyžadují pro svou aktivaci.

NMDA i non-NMDA receptory, významné v přenosu bolestivých vjemů se nachází na neuronech v povrchových oblastech DH (*substantia gelatinosa*), zejména pak v lamině II (Coggeshall a Carlton, 1997).

Glutamát má význam i v **pomalém synaptickém přenosu**, kdy působí na **glutamátové metabotropní receptory** (mGluR) spřažené s G-proteiny. Ty aktivují přes druhé posly rozličné signální kaskády, důležité v modulaci neuronální excitability, synaptické plasticity, zpětnovazebné regulace a v uvolňování neurotransmiterů (Ferraguti a Shigemoto, 2006).

Rodina 8 odlišných typů mGluR se na základě podobnosti v aminokyselinové sekvenci, transdukčních mechanismů a farmakologických účinků dělí na tři skupiny (Pin a Duvoisin, 1995).

I. skupina zahrnuje mGluR1 a mGluR5. Tyto receptory se podílejí na aktivaci fosfolipázy C (PLC). PLC štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP₂) na druhé posly inositol-1,4,5-trifosfát (IP₃) a diacylglycerol (DAG). IP₃ způsobuje uvolňování Ca²⁺ z intracelulárních zásobáren. Zvýšená koncentrace Ca²⁺ pak společně s DAG aktivuje protein kinázu C (PKC), která fosforylací ovlivňuje řadu buněčných komponent (Ferraguti a Shigemoto, 2006; Pin a Duvoisin, 1995).

Do *II. skupiny* patří mGluR2 a mGluR3. *III. skupina* zahrnuje mGluR4 a mGluR6 až 8. Receptory II. a III. skupiny se podílejí na inhibici adenylát cyklázy (AC), avšak liší se ve farmakologických vlastnostech, neboť obě skupiny mohou být aktivovány odlišnými agonisty (Ferraguti a Shigemoto, 2006; Pin a Duvoisin, 1995).

Metabotropní glutamátové receptory jsou na rozdíl od ionotropních, významné spíše v modulaci nocicepce, než v přímém zprostředkování excitační synaptické aktivity. Po poranění jsou mGluR zodpovědné za plastické změny na synapsích mezi centrálními zakončeními PAF a neurony druhého řádu v DH. Tyto změny vedou k centrální senzitivaci a hyperexcitabilitě neuronů (Chiechio a Nicoletti, 2012).

Výše uvedené receptory se nevyskytují pouze na postsynaptické membráně neuronů v DH. Bylo prokázáno, že k jejich expresi dochází také v tělech neuronů umístěných v DRG a vyskytují se v různé míře na centrálních zakončeních PAF (Coggeshall a Carlton, 1997).

7.2. NEUROPEPTIDY DŮLEŽITÉ V MODULACI NOCICEPCE

Pronociceptivní neuropeptidy **substance P** (SP) a **neurokinin A** (NKA) patří mezi tachykininy. Přítomnost těchto tachykininů není omezena jen na nervovou soustavu, ale nachází se také např. v endotelu, či buňkách imunitního systému, které se zapojují do zánětlivé reakce (Khawaja a Rogers, 1996). SP se váže především na receptor NK₁, NKA na receptor NK₂. Přirozené tachykininy se však mohou s různou afinitou vázat na všechny tachykininové receptory (NK₁ – NK₃). Tyto receptory mají sedm segmentů procházejících membránou a patří do rodiny receptorů spřažených s G-proteiny. Jejich hlavní význam je v pomalém synaptickém přenosu (Almeida a kol., 2004).

Stimulace tachykininových receptorů vede prostřednictvím α -podjednotky G-proteinu k aktivaci fosfolipázy C, která štěpí PIP₂ na IP₃ a DAG. Tyto látky zodpovídají za zvýšení koncentrace intracelulárního Ca²⁺, který vyvolává buněčnou odpověď (Khawaja a Rogers, 1996). Stimulace NK₁ receptoru substancí P může vést kromě aktivace fosfolipázy C _{β} , také k aktivaci fosfolipázy A₂ a adenylát cyklázy (Harrison a Geppetti, 2001).

Hlavním zdrojem tachykininů v periferním nervovém systému, ale i v DH jsou C vlákna malého průměru, v menší míře pak také A δ vlákna. Pomocí autoradiografie a imunobarvení bylo zjištěno, že distribuce většiny receptorů pro SP se nachází v povrchových laminách DH (lamina *I* a *II*), a koreluje tedy s lokalizací zakončení nociceptivních C vláken (Charlton a Helke, 1985; Zeraria a kol., 1995). Hustota receptorů pro SP v DH je nejvyšší v sakrální části míchy, následuje bederní, hrudní a krční část (Charlton a Helke, 1985). V případě NK₂ receptorů bylo pomocí radioaktivně značeného NKA zjištěno, že většina receptorů se nachází v lamině *II* (Yashpal a kol., 1991).

SP a NKA patří mezi peptidy podílející se na neurogenním zánětu, tedy procesu, kdy jsou prozánětlivé látky vylučovány samotnými senzoryckými neurony o malém průměru (Khawaja a Rogers, 1996).

Při poškození míšních či periferních nervů a při zánětu v periférii dochází v DH k zvýšení exprese NK₁ receptorů. Tento mechanismus je jedním z podkladů pro rozvoj zvýšené citlivosti ke škodlivým podnětům (Coggeshall a Carlton, 1997). Lieberman a Mody (1998) ukazují, že SP vyvolává prostřednictvím NK₁ receptorů robustní zesílení aktivity NMDA receptorů. Následný zvýšený vtok Ca²⁺ do buňky aktivuje Ca²⁺ dependentní signální dráhy, včetně protein kináz a transkripčních faktorů. V důsledku těchto dějů dochází u zvířecích modelů zánětlivé a neuropatické bolesti k rozvoji hypersenzitivity (Sandkühler, 2007).

SP při zánětu přispívá k rozvoji hyperalgezie, avšak po jejím vzniku se snižuje podíl, kterým se SP podílí na udržení tohoto stavu (Traub, 1996).

CGRP (Calcitonin gene-related peptid) je peptid, vznikající alternativním sestřihem genu pro kalcitonin. V DH je vylučován především z nemyelinizovaných C vláken, v menší míře také z A δ . Vyskytuje se ve dvou formách – CGRP α a CGRP β . V DH se pro CGRP nacházejí receptory dvou typů – CGRP₁ a CGRP₂ (Van Rossum a kol., 1997). Tyto receptory jsou spřažené s G-proteiny, které aktivují PLC β (Drissi a kol., 1998) a/nebo adenylát cyklázu (Lazar a kol., 1991).

Nejvyšší koncentrace CGRP v DH se vyskytuje v povrchové lamině *I* a *II* (Tschopp a kol., 1985). Koncentrace vazebných míst pro CGRP je však nejvyšší v lamině *I*, *X* a střední části lamin *III* a *IV*. V lamině *II* bylo prokázáno minimum receptorů (Yashpal a kol., 1992).

CGRP má pronociceptivní účinky. Aktivovaný CGRP₁ receptor prostřednictvím druhých poslušů aktivuje PKA či PKC, které následně způsobují senzitivizaci WDR neuronů a mechanickou hyperalgezi (Sun a kol., 2004).

Společně se substancí P a neurokininem A se CGRP podílí na neurogenním zánětu. Pokud je injikován samotný CGRP může vyvolat zánětlivou odpověď, avšak bolest je pociťována pouze tehdy, je-li CGRP podán ve směsi se SP nebo NKA (Pedersen-Bjergaard a kol., 1991).

Během zánětu dochází k plastickým změnám v syntéze, skladování a výlevu CGRP a SP z peptidergických neuronů v DH. Jak ukazují Galeazza a kol. (1995), velmi rychle po indukcii zánětu v podkoží dochází k výraznému poklesu hladiny imunoreaktivní SP a CGRP v dorzální polovině míchy. Toto snížení odráží zvýšený výlev SP a CGRP během vývoje zánětu a hyperalgezie. Ukazují také, že od

druhého dne po indukci zánětu v DRG dochází k zvýšené expresi obou peptidů, což vede k obnovení jejich původní hladiny v míše.

Bradykinin je pronociceptivní, vazoaktivní a zánětlivý peptid. Vzniká při poškození tkáně štěpením prekursoru kininogenu enzymem kallikreninem. Bradykinin působí na kininové receptory spřažené s G-proteiny. Existují dva typy kininových receptorů – B₁ a B₂, přičemž typ B₂ je ve zdravé tkáni častější. Množství B₁ receptoru narůstá při poškození tkáně díky zvýšené hladině prozánětlivých cytokinů (Leeb-Lundberg a kol., 2005). Oba typy receptorů vyvolávají v závislosti na typu G-proteinu buď: 1.) prostřednictvím G α_q podjednotky stimulaci PLC (Gutowski a kol., 1991), nebo 2.) prostřednictvím G α_i podjednotky inhibici AC (Ewald a kol., 1989).

Nejvyšší denzita receptorů pro bradykinin je v oblasti bederní míchy. V DH bylo zjištěno nejvíce vazebných míst v oblasti *substantia gelatinosa* (lamina II), střední denzita v lamině III a nejmenší množství receptorů v lamině I, IV a V. Malé množství receptorů se vyskytuje také ve ventrálním rohu (laminy VI-IX) a kolem centrálního kanálku (lamina X). Farmakologicky bylo zjištěno, že se jedná o receptor typu B₂ (Lopes a kol., 1995).

Galanin (GAL) je peptid, patřící mezi gastriny. V DH je vylučován z C a A δ vláken a také z interneuronů. Za běžných podmínek je působení tohoto neuropeptidu pronociceptivní, avšak při poškození PAF tlumí nocicepci a působí proti senzitivaci a rozvoji hyperexcitability. Na útlumu nocicepce se podílí zvýšená syntéza GAL a změny v množství receptorů pro GAL v DH (Luo, 1995; Xu a kol., 1997b).

Jsou známy 3 typy s G-proteiny spojených galaninových receptorů – GalR1, 2 a 3. V DH se nachází převážně v lamně I a II (Xu a kol., 2008). Antinociceptivní a obecně inhibiční účinky galaninu jsou zprostředkovány přes Gal1R, který prostřednictvím G α_i podjednotky inhibuje AC, způsobuje otevření K⁺ kanálů a zavření Ca²⁺ kanálů, čímž buňky hyperpolarizuje (Kask a kol., 1997). Galanin má nejvyšší afinitu k GalR2 receptoru, který má pronociceptivní vliv. Přes G α_q podjednotku aktivuje PLC (Wang a kol., 1998). GalR3 reguluje vylučování neurotransmiterů podobně jako GalR1. Funguje ve spojení s G proteiny G $_q$ /G $_o$ třídy, které spouští kaskádu vedoucí k otevření K⁺ kanálů (Smith a kol., 1998).

Bylo zjištěno, že při poškození nervu (např. při axotomii, zánětu, či intratekální injekci směsi GAL a saporinu) dochází v DH, především na excitačních interneuronech, k úbytku GalR1 a GalR2 receptorů (Lemons a Wiley, 2011; Xu a kol., 1997a). Snížením jejich denzity pravděpodobně dochází k útlumu aktivity excitačních nociceptivních interneuronů. Tomu nasvědčuje rozvoj termální hypoalgesie, tedy snížení citlivosti k tepelným podnětům, při intratekální aplikaci směsi galaninu a saporinu (Lemons a Wiley, 2011).

Cholecystokinin (CCK) také patří mezi gastriny. Především na periférii se vyskytuje CCK-A receptor, v CNS pak zejména CCK-B. CCK-A receptor však může být přítomen i v CNS. Byl totiž zjištěn jako dominantní receptor v míše primátů, zatímco u potkana je dominantním receptorem CCK-B (Hill a Woodruff, 1990).

Po poranění PAF narůstá dramaticky v tělech neuronů spinálních ganglií intenzita syntézy mRNA pro CCK (Xu a kol., 1993). Zvýšený výlev CCK v DH při poranění nervu nebo zánětu může přispívat k udržování chronické bolesti, neboť redukuje antinociceptivní efekt opioidů. Tato vlastnost má zásadní klinický význam, poněvadž působením CCK může docházet ke snížení účinnosti opioidních léčiv (Wiesenfeld-Hallin a kol., 2002). Tyto výsledky naznačují, že má-li být tlumení neuropatické bolesti úspěšné, měla by analgetika vedle opiátů obsahovat také antagonisty CCK receptorů (Xu a kol., 1993).

Na provázaný vztah CCK a endogenních opioidů poukazuje také fakt, že přítomnost obou látek a jejich receptorů v míše se značně překrývá (Wiesenfeld-Hallin a kol., 2002).

7.3. DALŠÍ NEUROMODULÁTORY DŮLEŽITÉ V MODULACI NOCICEPCE

Jako potencionální neuromodulátory, modulující nocicepci v DH mohou působit také adenosintrifosfát (ATP), prostaglandiny (PG) a oxid dusnatý (NO). Tyto látky mohou být uvolňovány jak z PAF všech tří typů, tak z ostatních neuronů, gliových a imunitních buněk, přítomných v DH i na periférii. Rovněž spektrum jejich vlivu není omezené pouze na neurony, ale působí na řadu dalších buněk ve svém okolí (Millan, 1999).

ATP, ADP a adenosin se váží na purinergní receptory. Původně se předpokládalo, že jediným zdrojem extracelulárního ATP, působícího na tyto receptory, jsou poškozené nebo mrtvé buňky. V současnosti je však známo, že k výlevu ATP dochází i ze zdravých buněk. U neuronů je výlev zprostředkován synaptickými váčky. V synaptických váčkách bývá ATP často jako kotransmitter s inhibičními aminokyselinami (GABA a glycin). Buňky ostatních typů využívají k přesunu ATP membránový transportér, patřící k ABC (ATP-binding cassette) rodině proteinů (Bodin a Burnstock, 2001; Robertson a kol., 2001).

Dle odlišných farmakologických vlastností, podjednotkového složení a transdukčních mechanismů, se rozlišují tři rodiny purinergních receptorů. Adenosin, váží *P1* metabotropní receptory. ATP či ADP váží *P2X* – ligandem otvírané iontové kanály (zejména pro Ca^{2+}) a *P2Y* – metabotropní, s G-proteiny spřažené receptory (Abbracchio a Burnstock, 1994). Jsou známy 4 podtypy *P1* receptorů, sedm podtypů *P2X* a osm podtypů *P2Y* receptorů (Burnstock, 2011).

Z osmi známých *P2Y* receptorů váží ADP či ATP typy *P2Y*_{1, 2, 11, 12, 13}. *P2Y*_{1, 2} jsou přes $G_{q/11}$ proteiny pozitivně spojené s PLC. *P2Y*_{12, 13} přes $G_{i/o}$ proteiny inhibují AC, a tak snižují hladinu cAMP v buňce. *P2Y*₁₁ jsou přes $G_{q/11}$ a G_s proteiny spojeny s aktivací PLC i AC (Gerevich a Illes, 2004).

Jak ukazují Bradbury a kol. (1998), exprese homomerického receptoru *P2X*₃ je typická pro „non-peptidergní“ neurony spinálních ganglií, s těly malého průměru. V DH byl imunobarvením *P2X*₃ identifikován výlučně v lamině *II_i*, což odpovídá lokalizaci zakončení tohoto typu C vláken. Pro „non-peptidergní“ neurony je rovněž typický metabotropní *P2Y*₁ receptor (Ruan a Burnstock, 2003).

V případě neuronů s těly středního průměru bylo pomocí *in situ* hybridizace zjištěno, že exprimují mRNA typu P2X₂ a P2X₃, které dají vzniku heteromultimernímu P2X_{2/3} receptoru. U neuronů s těly velkého průměru nebyla detekována mRNA ani jednoho typu (Ueno a kol., 1999).

ATP uvolňované na synapsích v DH působí postsynapticky prostřednictvím P2X₂, P2X₄ a/nebo P2X₆ receptorů. Uvolněné ATP je v synaptické štěrbině také rychle štěpeno na adenosin, který prostřednictvím P1(A₁) receptorů na presynaptické membráně snižuje aktivitu AC, čímž působí jako inhibitor další transmise (Burnstock, 2009).

Jak již bylo řečeno, ATP nepůsobí jen na neuronech. Mikroglie a imunitní buňky jsou k purinům rovněž citlivé. Po aktivaci mohou tyto buňky vylučovat různé zánětlivé cytokiny, např. IL-1 β , IL-6 a TNF α . Tento děj je žádoucí při infekci v CNS, avšak nadměrná stimulace této imunitní reakce může zvýšit rozsah poškození způsobeného ischemií, úrazem nebo neurodegenerativním onemocněním (Burnstock, 2006).

Prostaglandin E₂ (PGE₂) je prozánětlivý mediátor, patříci mezi prostaglandiny (PG). PG řadíme k prostanoidům – lipidickým látkám, syntetizovaným enzymem cyklooxygenázou (COX) z kyseliny arachidonové, která vzniká z fosfolipidů činností fosfolipázy A₂ (PLA₂). Prostanoidy s hlavním vlivem na zpracování bolestivých signálů jsou PGE₂ a PGI₂ (Kawabata, 2011).

V současné době jsou známy čtyři metabotropní PGE₂ receptory – EP₁₋₄. EP₁ stimuluje přes rodinu G_{q/11} proteinů PLC, která vyvolává mobilizaci intracelulárních zásob Ca²⁺ a aktivitu PKC. EP₂ a EP₄ aktivují přes G_s proteiny AC. Produkované cAMP pak aktivuje PKA. EP₃ receptory existují ve čtyřech podtypech. Přes G_i a G_s proteiny inhibují či aktivují činnost AC (Narumiya a kol., 1999).

V tkáních se běžně vyskytují dvě izoformy cyklooxygenázy COX-1 a COX-2. U potkanů jsou v míše obě izoformy, převážně však COX-2. Pokud je v periférii vyvolán zánět, hladina mRNA pro COX-1 se nemění, avšak dochází k zvýšení exprese mRNA pro COX-2 (Beiche a kol., 1996). Zvýšená aktivita COX-2 vede k produkci velkého množství prostaglandinu H₂ (PGH₂), prekurzoru všech prostanoidů. Během zánětu se zvyšuje i hladina membránové PGE syntázy-1 (mPGES-1), což je jeden ze tří enzymů, vytvářejících PGE₂ z PGH₂, produktu COX (Kamei a kol., 2004). Při zánětu byla v DRG zjištěna také zvýšená exprese EP₄ receptorů (Lin a kol., 2006).

Zvýšená hladina mPGES-1 a PGE₂ v poškozené tkáni a EP₄ receptoru v periferních zakončeních vysokoprahových PAF je zodpovědná za rozvoj periferní senzitivace a zánětlivé hyperalgie. EP₁ a EP₄ receptory totiž zprostředkují aktivaci většího množství PKA a PKC, které na periferním zakončení fosforylují TRPV1 kanály, purinergní P2X₂ receptory, Ca²⁺ kanály T-typu a napětově ovládané, k tetrodotoxinu rezistentní Na⁺ kanály (Kawabata, 2011).

Prostanoidy PGE₂ a PGI₂ vyvolaná periferní senzitivace a nárůst produkce cAMP má v DH za následek zvýšený výlev neuropeptidů SP a CGRP z centrálních zakončení sensorických neuronů. Inhibice AC v sensorických neuronech výlev ruší (Hingtgen a kol., 1995).

Při poranění periferních tkání je PGE₂ produkován také přímo v míše. Jako COX-2 aktivující, k hypersenzitivě a centrální senzitivaci přispívající modulátor se v CNS ukázal prozánětlivý cytokin,

IL-1 β (Samad a kol., 2001). Vazebná místa pro PGE₂ byla v DH nalezena v povrchových laminách I a II (Matsumura a kol., 1992). To naznačuje, že většina receptorů se nachází v synapsích s C vlákny.

Zánět potlačující léky, inhibující COX-1 / COX-2 mají výrazné nežádoucí vedlejší účinky, neboť působí na všechny prostanoidy, nejen PGE₂. Vhodnějším cílem pro vývoj analgetik s menšími vedlejšími účinky se zdá být inhibice mPGES-1 syntázy, která vytváří přímo PGE₂ z prekursoru PGH₂. Další variantou je použití agonistů PGE₂ receptorů (Kawabata, 2011).

Oxid dusnatý (NO) je plyn s celou řadou jak fyziologických, tak patologických funkcí a je produkován mnoha buněčnými typy. Skrze plazmatickou membránu může procházet volnou difuzí, působí tedy *intra-* i *inter*celulárně. NO je velice nestabilní a rychle se oxiduje na NO₂. NO vzniká v těle činností enzymu NOS (syntáza oxidu dusnatého). NOS katalyzuje rozklad L-argininu na L-citrulin a NO. Jsou známy tři typy NOS – neuronální NOS (*n*NOS / NOS-1), endoteliální (*e*NOS / NOS-3) a indukibilní (*i*NOS / NOS-2). Za běžných fyziologických podmínek jsou stále exprimovány pouze *n*NOS a *e*NOS. K aktivaci těchto izoform je nutný Ca²⁺ vázající protein kalmodulin. Exprese *i*NOS je indukována prozánětlivými cytokiny, lipopolysacharidy či mikrobiálními produkty. Aktivita *i*NOS není závislá na koncentraci Ca²⁺ (Luo a Cizkova, 2000).

Wu a kol. (2001) ukazují, že *n*NOS a *i*NOS přispívají k rozvoji centrální senzitivace. Po indukci zánětu v periférii se totiž v míše zvyšuje exprese jak *n*NOS, tak *i*NOS. Následkem toho zvýšená hladina NO vyvolává sekundární hyperalgezií a alodynii.

Poškození, vyvolávající periferní senzitivaci, vede ke zvýšenému výlevu glutamátu z centrálních zakončení PAF. Glutamát na postsynaptické membráně projekčních neuronů aktivuje NMDA receptory, propustné pro Ca²⁺. Zvýšená propustnost NMDA kanálů přispívá k centrální senzitivaci, neboť Ca²⁺ nadměrně aktivuje kalmodulin senzitivní NOS. Cílem oxidu dusnatého je NO-senzitivní guanylát cykláza (NO-GC), produkující cGMP (Schmidtko a kol., 2009).

Jelikož cGMP aktivuje v mnoha tkáních cGMP-dependentní protein kinázu I (PKG-1 / cGKI), předpokládalo se, že pronociceptivní efekt cGMP v DH se projevuje výhradně přes aktivaci PKG-1. Tuto hypotézu však vyvrátilo zjištění, že exprese NO-GC je omezena na neurony zadních rohů míšních (Schmidtko a kol., 2008), zatímco PKG-1 je exprimována především v DRG, v tělech periferních aferentních neuronů středního a malého průměru (Qian a kol., 1996).

Schmidtko a kol. (2008) ukazují, že cGMP produkované NO-senzitivní guanylát cyklázou v DH, může působit centrální senzitivaci prostřednictvím jiných drah, nezávisle na PKG-1. Dále bylo zjištěno, že PKG-1 v centrálních zakončeních PAF může být aktivována prostřednictvím receptoru pro natriuretický peptid (NPR-B / GC-B), který, jako NO-GC v DH, produkuje cGMP.

Neurotrofiny, neboli nervové růstové faktory jsou proteiny, mající klíčový význam v regulaci přežívání a v postnatální diferenciaci sensorických neuronů malého průměru.

V dospělosti je pro populaci „peptidergických“ neuronů typická exprese receptoru TrkA, což je vysoce afinní tyrozin kinázový receptor pro **nervový růstový faktor** (NGF). „Non-peptidergické“ neurony exprimují jiný receptor, a to tyrozin kinázu rodiny RET, na kterou se váže **gliální nervový růstový faktor** (GDNF) (Snider a McMahon, 1998).

K tomuto rozrůznění senzoričkých vláken však dochází až postnatálně. Během embryonálního vývoje závisí přežívání prakticky všech buněk s těly malého průměru na NGF. Během 14 dní po porodu se exprese TrkA snižuje na úroveň dospělého jedince. V dospělosti je TrkA exprimována asi jen ve 40% buněk spinálních ganglií. K poklesu exprese dochází právě v populaci vyvíjejících se „non-peptidergních“ neuronů (Bennett a kol., 1996).

NGF během zánětu ovlivňuje v senzoričkých neuronech a v okolních buňkách přes TrkA receptor řadu transdukčních signálů a expresi některých neuromodulátorů, či jejich receptorů. To může vést k dlouhodobým změnám v periferní a centrální citlivosti ke škodlivým podnětům (Bennett, 2001).

Při zánětu dochází v periférii ke zvýšení hladiny NGF. NGF je produkován mnoha buněčnými typy jako odpověď na zvýšenou hladinu prozánětlivých cytokinů. Experimentální podání NGF způsobuje zvýšení hladiny neuropeptidů SP a CGRP v senzoričkých neuronech a vede ke vzniku termální a mechanické hyperalgie. Podání anti-NGF protilátek znemožňuje působení NGF a výrazně snižuje hypersenzitivitu. NGF se tedy ukázal jako hlavní činitel, zodpovědný za rozvoj hypersenzitivity při zánětu (Woolf a kol., 1994). NGF dále v senzoričkých neuronech zvyšuje expresi jiného růstového faktoru – BDNF (Brain-derived neurotrophic factor). BDNF je následně v DH vylučován z centrálních zakončení PAF na neurony laminy II. Na postsynaptické membráně se BDNF váže k receptoru TrkB, která fosforylací NMDA kanálů významně přispívá k rozvoji centrální senzitivace. BDNF přes TrkB také spouští kaskádu, vedoucí k expresi protoonkogenu c-Fos (Garraway a kol., 2003; Kerr a kol., 1999).

GDNF nepůsobí na receptor tyrosin kinázu RET přímo, ale prostřednictvím GFR α 1 receptoru, který je v plasmatické membráně ukotven přes GPI (glykosyl fosfatidyl inositolovou) kotvu. Aktivovaný GFR α 1 se váže k extracelulární doméně RET, čímž aktivuje intracelulární tyrosin kinázovou doménu (Airaksinen a Saarna, 2002).

V kontrastu k NGF, účinky GDNF jsou antinociceptivní. Jak ukazují Adler a kol. (2009), intratekální podání GDNF po částečném porušení sedacího nervu eliminuje mechanickou alodynii. Podání GDNF totiž zvyšuje expresi somatostatinu, což je neuropeptid s potenciálně analgetickými vlastnostmi.

Při kompletním přerušení / axotomii sedacího nervu, dochází k rychlému, výraznému a dlouho přetrvávajícímu poklesu hladiny GDNF (Jongen a kol., 1999), z čehož je patrné, že GDNF nepřispívá k rozvoji neuropatické bolesti.

7.4. INHIBIČNÍ MECHANISMY V DH

Synaptický přenos z periferie do CNS je v DH regulován několika inhibičními mechanismy. Redukce nebo úplná eliminace těchto inhibičních mechanismů, např. po poranění nervu či během zánětu má významnou roli v rozvoji centrální senzitivace. V této kapitole bude nastíněn mechanismus působení inhibičních aminokyselin (kyseliny γ -aminomáselné (GABA) a glycinu) a

opioidů produkovaných inhibičními interneurony (IN). Descendentní inhibice ze supraspinálních center bude zmíněna v následující kapitole.

Hlavní inhibiční aminokyselina v CNS je **GABA**. GABA je v neuronech syntetizována z glutamátu enzymem glutamát dekarboxylázou. V DH působí na GABA_A a GABA_B receptory. Oba typy se vyskytují jak post-, tak presynapticky. Na rychlém synaptickém přenosu se podílí ionotropní GABA_A, spojený s chloridovým kanálem. Druhý receptor, GABA_B působí přes trimerní G-proteiny (Coggeshall a Carlton, 1997).

GABA_A receptor (GABA_AR) je ligandem otevíraný iontový kanál pro Cl⁻ ionty, jehož antagonistou je alkaloid bikukulin. Vtok Cl⁻ vede k hyperpolarizaci membrány a indukuje tak rychlé inhibiční postsynaptické proudy (IPSC), čímž snižuje dráždivost dané buňky. Aktivovaný GABA_AR na presynaptické membráně tlumí výlev neurotransmiterů ze zakončení PAF na neurony v DH a postsynapticky snižuje citlivost neuronů k uvolňovaným transmittérům.

Nejvyšší denzita GABA_AR v DH byla zjištěna v laminách I-III. GABA_AR je pentamer s rozmanitým podjednotkovým složením. Je známo 20 odlišných podjednotek (6 α , 4 β , 3 γ , 1 δ , 1 ϵ , 1 π , 1 θ a 3 ρ), náležících do 8 tříd. Stechiometrické složení většiny GABA_AR v CNS je 2 α , 2 β , 1 γ , přičemž δ , ϵ a π mohou nahrazovat γ podjednotku, θ pak β podjednotku. Farmakologické a elektrofyziologické vlastnosti závisí na konkrétním podjednotkovém složení receptoru (Sieghart a Sperk, 2002). Jak ukazují Bohlhalter a kol. (1996), v DH jsou výrazné rozdíly v laminární distribuci jednotlivých typů podjednotek, což poukazuje na různé podjednotkové složení GABA_AR v různých laminách. Heterogenita ve složení GABA_AR souvisí s funkční specializací neuronů jednotlivých lamin.

GABA_B receptor (GABA_BR) je zvláštním typem receptoru spřaženého s G-proteiny. GABA_BR totiž není tvořen jedním proteinem, jak je obvyklé, ale jde o dimer dvou různých podjednotek – GABA_{B(1)} a GABA_{B(2)}. GABA_BR funguje ve spojení s G_{i/o} proteiny, inhibujícími AC. Postsynapticky GABA_BR aktivuje přes G $\beta\gamma$ -podjednotky draslíkové kanály typu Kir3 / GIRK, kterými z buněk vytéká K⁺, což vyvolá pozdní IPSC. Presynapticky G $\beta\gamma$ -podjednotky inhibují napěťově ovládané Ca²⁺ kanály. GABA_BR na inhibičních IN je součástí zpětnovazebního mechanismu, kdy uvolněná GABA působí presynapticky proti dalšímu výlevu transmittérů (Bettler a kol., 2004).

Na presynaptické membráně inhibičních IN v DH hrají důležitou roli také kainátové receptory, které jsou aktivovány glutamátem, uvolněným z centrálních zakončení PAF. Aktivované kainátové receptory způsobují depolarizaci presynaptické membrány inhibičního IN, což vede k otevření napěťově závislých Ca²⁺ kanálů a následně k výlevu inhibičních aminokyselin na PN. Inhibiční IN se tedy zásadně podílejí na regulaci běžného synaptického přenosu mezi PAF a PN (Kerchner a kol., 2001).

Poškození PAF má významný vliv na fungování inhibičních IN. Jak ukazují Moore a kol. (2002), po částečném poranění sedacího nervu dochází v DH k poklesu GABAergní transmise. To je způsobeno buď přímo apoptózou inhibičních IN, nebo poklesem syntézy GABA v těchto IN. Pokles presynapticky uvolňované GABA má za následek útlum IPSC zprostředkovaných GABA_AR na membránách PN v lamině II. Při kompletním přerušení sedacího nervu, k poklesu GABAergní

transmise nedochází, neboť centrální zakončení přetátých PAF na IN už nemohou působit. Z toho je patrné, že inhibiční IN jsou přímo ovlivňovány neuromodulátory z PAF.

Druhou, z hlediska nocicepce neméně významnou inhibiční aminokyselinou je glycin.

Glycin působí na **glycinový receptor** (GlyR), což je ligandem otevíraný iontový kanál (zejména pro Cl⁻). Jeho antagonistou je alkaloid strychnin. Podobně jako GABA_AR, také GlyR presynapticky reguluje výlev transmiterů a na postsynaptické membráně, vyvolává IPSC, čímž snižuje citlivost. Jsou známy dva typy GlyR – strychnin senzitivní a strychnin insenzitivní. V DH se vyskytuje strychnin senzitivní typ. Jde opět o pentamer, složený ze dvou typů podjednotek. α podjednotku kódují 4 geny, β podjednotku pouze 1 gen. GlyR může být buď jako homo-oligomer, tvořený pouze α podjednotkami, nebo jako hetero-oligomer z α a β podjednotek. Současné poznatky naznačují, že podjednotkové složení hetero-oligomerních GlyR je $2\alpha:3\beta$. Významnou součástí GlyR je membránový protein gephyrin, který kotví receptor v membráně napojením přes β podjednotku. Nejvíce zastoupeným typem v míše je $\alpha1\beta$ GlyR (Coggeshall a Carlton, 1997; Lynch, 2009).

Jako významný zprostředkovatel inhibiční glycinergní transmise v DH se však ukázal $\alpha3\beta$ GlyR, nacházející se především v lamině II, kde končí většina nociceptivních PAF (Harvey a kol., 2004). Glycinem vyvolané IPSC na postsynaptické membráně mohou být inhibovány prozánětlivým prostaglandinem PGE₂ (Ahmadi a kol., 2002). PGE₂ aktivuje přes EP₂ receptor kaskádu vedoucí k aktivaci PKA, která fosforylací inhibuje $\alpha3\beta$ GlyR (Harvey a kol., 2004). Inhibice $\alpha3\beta$ GlyR prostaglandinem E₂ v důsledku způsobuje centrální senzitivizaci.

Význam obou výše zmíněných inhibičních mechanismů v modulaci synaptického přenosu je dobře patrný po intratekálním podání antagonistů GlyR a GABA_AR. Strychnin a bikukulin způsobují mechanickou alodynii, spojenou s rozvojem hypersenzitivity, kdy i lehké taktilní podněty jsou pociťovány jako bolest (Sivilotti a Woolf, 1994).

Snížení aktivity inhibičních, glycinergních a GABAergních interneuronů a receptorů přispívá k rozvoji zánětlivé a neuropatické bolesti mnohem více, než zvýšená citlivost samotných sensorických neuronů (Zeilhofer, 2005).

Vedle inhibičních aminokyselin mohou přenos nociceptivní informace tlumit také **endogenní opioidní peptidy / opioidy**. Do rodiny opioidních peptidů se tradičně řadí enkefaliny, dynorfiny a β -endorfin. Později objevené endomorfiny se odlišují atypickou strukturou a vysokou afinitou k μ -receptoru. Další skupinu opioidů tvoří peptidy, odvozené z prekursoru pronociceptinu. Tyto opioidy se váží k ORL1 receptoru (opioid receptor-like 1) (Przewlocki a Przewlocka, 2001). Důležitým exogenním opioidem je morfin, klinicky využívaný jako silné analgetikum.

Existují tři třídy a několik podtypů opioidních receptorů (μ_1 -, μ_2 -, δ_1 -, δ_2 - a κ_1 -, κ_2 -, κ_3 -receptory). Jedná se o receptory spřažené s G-proteiny. V DH se nacházejí pre- i postsynapticky, nejvíce v povrchových laminách I a zejména II. V těchto laminách byla zjištěna i přítomnost opioidních peptidů. Endogenní agonisté μ -receptorů jsou endomorfiny, exogenním je morfin. K δ -receptorům se s nejvyšší afinitou váží enkefaliny, v případě κ -receptorů jsou hlavními endogenními agonisty dynorfiny a u β -endorfinu byla zjištěná stejná afinita k μ - i δ -receptorům. Toto rozdělení

však není striktní, s nižší afinitou se uvedené opioidní peptidy váží i k ostatním receptorům. Endogenním agonistou nejpozději objeveného ORL1 receptoru, je peptid nociceptin (zvaný také orphanin FQ). ORL1 receptor je téměř ze 70% sekvenčně homologní s ostatními opioidními receptory (Coggeshall a Carlton, 1997; Przewlocki a Przewlocka, 2001).

μ -receptory v DH mají zcela klíčový význam v tlumení nocicepce. Intratekální podání antagonistů μ -receptorů totiž blokuje analgetické účinky systémově podávaných agonistů μ -receptoru, např. morfinu (Chen a Pan, 2006). Aktivované μ -receptory působí přes $G_{i/o}$ proteiny, jejichž α podjednotky vedou k inhibici AC. Na presynaptické membráně μ -receptory přes G_o proteiny inhibují napět'ově ovládané Ca^{2+} kanály, čímž tlumí výlev transmiterů z PAF. To se však děje nezávisle na aktivitě AC, tedy přes $G\beta\gamma$ -podjednotku (Moises a kol., 1994). Na postsynaptické membráně neuronů laminy II_o μ - a δ -receptory aktivují, rovněž přes $G\beta\gamma$ -podjednotky, draslíkové kanály typu Kir3/GIRK, kterými z buněk vytéká K^+ , což vyvolá hyperpolarizaci a IPSC (Marker a kol., 2005).

Největší potenciál na tlumení excitačního glutamatergního výlevu mají μ -receptory na C vláknech. Zde byl po podání agonisty zjištěn největší vliv na snížení evokovaných EPSC. V menší míře redukuje EPSC také μ -receptory na A δ vláknech a δ -receptory na C i A δ vláknech. Naopak, vliv presynaptických κ -receptorů na EPSC nebyl po podání agonisty zjištěn (Ikoma a kol., 2007).

Poranění periferního nervu má za následek pokles exprese mRNA μ -receptoru v DRG. K tomuto snížení však dochází pouze v poškozených neuronech, nikoli v celém nervu. Důsledkem je pokles denzity μ -receptorů na centrálních zakončeních poškozených PAF. Ke změnám dochází i postsynapticky, neboť bylo zjištěno, že podání agonistů μ -receptorů vyvolává u poraněných jedinců pouze nízkou aktivaci GIRK (Kohno a kol., 2005). Tyto změny vysvětlují, proč při neuropatické bolesti podávání agonistů μ -receptorů dostatečně netlumí bolest.

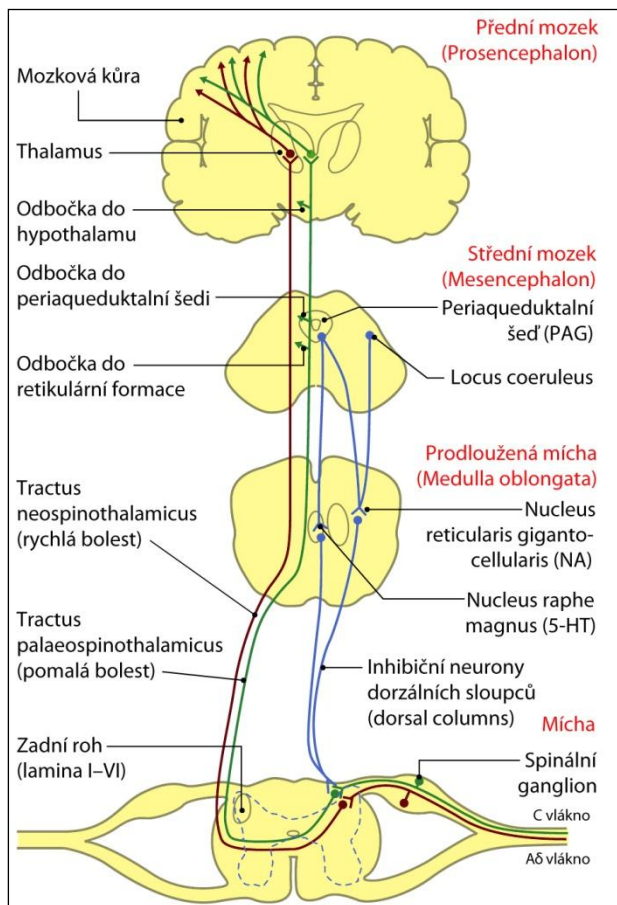
Opioidy a jejich receptory však nejsou významné jen na míšní úrovni. Při zánětu v periférii jsou významným zdrojem opioidů buňky imunitního systému (makrofágy, žírné buňky a lymfocyty). Ty se akumulují kolem zánětlivého ložiska a produkují ve větší míře mj. nocicepci tlumící β -endorfin, který se váže na receptory na nemyelinizovaných C vláknech (Stein a kol., 1990).

7.5. SUPRASPINÁLNÍ STRUKTURY MODULUJÍCÍ NOCICEPCI V DH

Jak již bylo řečeno, primární zpracování bolestivého podnětu se děje v DH, k sekundárnímu zpracování následně dochází v talamu a koncovém mozku (limbická centra, korové oblasti) (Millan, 1999).

Do vnímání bolesti v mozku je zapojena celá řada struktur. Část z nich má senzorio-diskriminativní vlastnosti (např. somatosenzorická kůra), jiné jsou spojené s emocionálními aspekty bolesti (např. *gyrus cinguli anterior* a insulární kůra). Nejmodernější zobrazovací techniky však poukazují i na zapojení dalších oblastí mozku, které nejsou obecně spojovány s bolestí (prefrontální korové oblasti, bazální ganglia a mozeček). V jaké míře tato aktivita souvisí s citovou složkou bolesti, nebo s odpovědí k bolestivému podnětu, není zcela jasné (Basbaum a kol., 2009).

Z DH vedou PN informaci do vyšších center spinotalamickou nebo spinoretikulární dráhou. Spinotalamickou dráhu, vedoucí především z lamin *I* a *V*, tvoří laterální *tractus neospinothalamicus* a mediální *tractus paleospinothalamicus*. Spinoretikulární dráha obsahuje axony neuronů z laminy *V*. Talamus je klíčovým místem při zpracovávání a přepojování somatosenzorických informací. Z talamických jader vedou dále neurony do korových oblastí (Obrázek 5) (Steeds, 2009).



Obrázek 5: Schéma míšních a supraspinálních drah bolesti: Popis v textu (Převzato a upraveno dle: Steeds, 2009).

Ze supraspinálních struktur do DH sestupují **descendentní dráhy**, které mají klíčovou roli v modulaci nocicepce. Lze je podle vlivu na neurony DH rozdělit na **inhibiční** a **facilitační**. Inhibiční dráhy projikují bílou hmotou DC do DH přes provazec *funiculus dorsolateralis medullae spinalis*, facilitační přes *funiculus ventrolateralis medullae spinalis* (Zhuo a Gebhart, 1997).

Nocicepce může být modulována descendentními drahami z: 1.) Korových oblastí (*cortex cingularis anterior*) 2.) Z mezimozku, z některých jader hypotalamu (např. *nucleus paraventricularis* a *nucleus tuberomamillaris*);

3.) Ze středního mozku z periaqueductální šedi (PAG) a z *nucleus tractus solitarii*; 4.) Z jader prodloužené míchy (*nucleus parabrachialis* a *nucleus reticularis dorsalis*) a z rostroventrální medully (RVM), která zahrnuje mediálně uložené serotoninergní jádro *nucleus raphe magnus* (NRM) a nesorotoninergní *nucleus reticularis gigantocellularis* a *nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis* (Millan, 2002).

Přestože inhibiční i facilitační dráhy mohou vycházet ze stejných mozkových struktur a dokonce mohou obsahovat i stejné transmitery (serotonin (5-HT); noradrenalin (NA); dopamin), jejich vliv na neurony v DH je rozdílný. V závislosti na typu aktivovaného receptoru, cílovou buňku excitují nebo inhibují. Pod vlivem descendentních drah jsou centrální zakončení PAF, excitační a inhibiční IN a PN (Millan, 2002). Mechanismy působení serotoninu a noradrenalinu, dvou klíčových transmiterů modulujících nocicepci v DH, budou stručně popsány níže.

V endogenní analgezii hraje zcela stěžejní roli oblast středního mozku, *substantia grisea centralis* (PAG). PAG integruje vstupy z talamu, amygdaly a kůry, ale také z kolaterál

spinalamického traktu (Steeds, 2009). PAG stimuluje serotonergní i nesorotonergní neurony v RVM a také noradrenergní jádra v mozkovém kmeni (Millan, 2002).

5-HT je produkován serotonergními neurony, které vycházejí z NRM. NRM je souhrnný název pro pontomedulární *nucleus raphe magnus* a přilehlé jádro *reticularis magnocellularis*. Neurony zde integrují informace přicházející z PAG a koncového mozku, a následně je předávají do oblasti DH, kde dochází k modulaci vzestupné transmise. Axony serotonergních neuronů vedou do povrchových i hlubších lamin DH (Mason, 1999; Steeds, 2009).

V DH se vyskytuje mnoho typů serotoninových receptorů, lišících se transdukčními mechanismy. Excitabilitu snižují 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} a 5-HT_{1D}, poněvadž inhibují AC. Naopak, receptory typu 5-HT₂, 5-HT₃ a 5-HT₄, pozitivně spřažené s PLC a AC, zvyšují excitabilitu neuronů v DH. Zda bude nocicepce inhibována, nebo facilitována záleží na tom, jaký receptor a na jakém typu neuronu je aktivován. Např. aktivace 5-HT₃ receptorů na inhibičních IN a aktivace 5-HT_{1A} na PN vedou k inhibici nocicepce. V opačné situaci, po aktivaci 5-HT_{1A} na inhibičních IN a 5-HT₃ na PN však dochází k facilitaci (Millan, 1995).

NA je produkován noradrenergními neurony. Ty se vyskytují v oblastech A1-A7 v mozkovém kmeni, přičemž největší část noradrenergních neuronů je lokalizována na spodině čtvrté mozkové komory, v rostrální části Varolova mostu, v oblastech A5 a A6 (tzv. *locus coeruleus*) a v A7 (*locus subcoeruleus*) (Westlund a kol., 1983). Většina axonů těchto neuronů projikuje do povrchových lamin I a II, kde vytváří synapse především s interneurony (Hagihira a kol., 1990). NA ale ovlivňuje i centrální zakončení PAF, neboť i zde byly nalezeny adrenergní α_2 receptory (Coggeshall a Carlton, 1997).

V DH se vyskytují adrenergní receptory (AR) tří typů α_1 , α_2 a β . Typ α_1 (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} -AR) přes G_{q/11} proteiny otevírá Ca²⁺ kanály a aktivuje PLC, jeho aktivace má tedy facilitační účinky. Naopak, typ α_2 (α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} -AR) přes G_{i/o} proteiny inhibuje AC a napětově ovládané Ca²⁺ kanály a zvyšuje vodivost pro K⁺. Tím jsou buňky hyperpolarizovány a výlev neurotransmiterů i generování EPSC je utlumeno. Třetí typ – β -AR má facilitační vliv, na modulaci nocicepce v DH se však zřejmě nepodílí (Yoshimura a Furue, 2006). V kontextu modulace nocicepce v DH je opět důležité, jaký receptor a na jakém typu neuronu je aktivován.

Intratekální podání agonisty α_2 -AR xylazinu, má výrazné, bolest tlumící účinky. Účinek xylazinu je zprostředkován zejména míšními α_2 -AR (Kyels a kol., 1993). Xylazin se ve veterinární medicíně používá jako účinná látka sedativ a analgetik (Giovannoni a kol., 2009).

7.6. CENTRÁLNÍ SENZITIZACE A DLOUHODOBÁ POTENCIACE NA MÍŠNÍ ÚROVNI

Přenos nociceptivní informace z periferních orgánů do vyšších mozkových center může na míšní úrovni podléhat dynamickým změnám, které vedou buď k jeho posílení (dlouhodobá potenciace, v anglické literatuře LTP – „long term potentiation“) nebo zeslabení (dlouhodobá

deprese, LTD – „long term depression“). Tato modulace synaptického přenosu je studována řadou laboratoří, poněvadž se předpokládá její podíl na chronických bolestivých stavech. Při této modulaci se uplatňuje celá řada presynaptických a postsynaptických mechanismů a svoji roli zde hrají mediátory, neuromodulátory a jejich receptory zmíněné v předchozích kapitolách. Vzhledem k rozsáhlosti a často kontroverzním výsledkům v této oblasti zde budou uvedeny pouze základní mechanismy.

Na úvod je nutné také poukázat na nejednotnost v používání termínů, popisujících plasticitu synaptického přenosu v DH. V literatuře je možné narazit na dva termíny, a to „*centrální senzitivace*“ a „*dlouhodobá potenciace*“, které různí autoři používají pro popis mechanismů, spojených se zvýšenou excitabilitou neuronů zadních rohů míšních. Vhodnost a výstižnost toho či onoho termínu pro popis plastických změn v DH je předmětem rozsáhlé diskuse předních odborníků (Latremoliere a Woolf, 2010; Sandkühler, 2010).

Centrální senzitivaci IASP definuje jako „*zvýšenou citlivost nociceptivních neuronů v centrálním nervovém systému k obvyklým nebo podprahovým aferentním vstupům*“ (IASP, 2011).

K centrální senzitivaci dochází na synapsích mezi PAF a neurony v DH. Centrální senzitivace je proces, kdy nociceptivní informace, vstupující do DH, může vyvolat dlouhodobé, ale vratné zvýšení dráždivosti postsynaptických membrán a oslabení inhibičních mechanismů, což vede k zvýšení účinnosti synaptického přenosu. K těmto změnám dochází většinou v reakci na vysokou aktivitu PAF, způsobenou například zánětem nebo poraněním nervu. V důsledku centrální senzitivace dochází v postsynaptických neuronech DH ke snížení prahu, rozvoji či zesílení spontánní aktivity, zesílení časové sumace a tím ke generování akčních potenciálů s vyšší frekvencí, než za normálních okolností. Senzitivované míšní nociceptivní neurony následně reagují i na podprahové stimulační (např. zprostředkované $A\beta$ vlákny), které za normálních okolností nevedly ke vzniku akčního potenciálu a nebyly tak vnímány jako bolestivé. Tyto změny zásadně přispívají ke vzniku zvýšené citlivosti na periferní podněty a k mechanické alodynii a hyperalgezi. Jsou rovněž zodpovědné za změny ve vnímání jak akutní, tak chronické bolesti (Latremoliere a Woolf, 2009; Woolf, 2011).

Na fenomén centrální senzitivace lze také nahlížet jako na obranný mechanismus specifický pro nocicepci, který přispívá k zachování integrity organismu tím, že při poškození tkání vyvolává přecitlivělost i v reakci na obvykle nebolestivé podněty, čímž chrání organismus před dalším poškozením (Latremoliere a Woolf, 2010).

Druhý termín, **dlouhodobá potenciace** (LTP) je název pro buněčný model synaptické plasticity, který bývá charakterizován jako dlouhotrvající, ne však nutně nevratné zvýšení synaptické účinnosti. LTP byla nejprve popsána v hippokampu a studována v kontextu paměti a učení (Bliss a Collingridge, 1993). Mnozí autoři termín „LTP“ používají také pro popis zvýšení synaptické síly mezi C vlákny a neurony DH, neboť i zde tento mechanismus sdílí podobné indukční mechanismy, farmakologické vlastnosti a nitrobuněčné signální dráhy jako v hippokampu (Sandkühler, 2010).

Z hlediska délky trvání a transdukčních mechanismů bývá centrální senzitivace i LTP charakterizována dvěma fázemi: 1.) Časná fáze, závisí na fosforylaci glutamátových receptorů a

iontových kanálů. Tyto změny nastávají prakticky okamžitě a uplatňují se zejména během prvních 3 hodin. 2.) Pozdní fáze se začíná uplatňovat zhruba po 3 hodinách od indukce změn. Závisí na syntéze nových proteinů, odpovědných za déle trvající změny, podílející se na udržování centrální senzitivace / LTP (Sandkühler, 2007; Woolf a Salter, 2000).

Podkladem iniciace a udržování jak centrální senzitivace, tak LTP jsou totožné mechanismy, založené především na aktivaci NMDA receptorů, s čímž souvisí nárůst intracelulární koncentrace Ca^{2+} iontů v neuronech DH. Podání antagonistů NMDA receptorů brání rozvoji, popř. tlumí již rozvinutou taktilní hypersenzitivitu (Liu a Sandkühler, 1995; Ma a Woolf, 1995). Ukázalo se však, že důležitou roli v rozvoji hypersenzitivity mají vedle NMDA receptorů také metabotropní glutamátové receptory I. skupiny, mGluR1 a mGluR5 (Azkue a kol., 2003). Také mGluR1/5, prostřednictvím aktivace PLC a druhých poslů, přispívají k zvýšení intracelulární koncentrace Ca^{2+} (Pin a Duvoisin, 1995).

Vzrůst intracelulární hladiny Ca^{2+} následně zvyšuje aktivitu Ca^{2+} -dependentních komponent mnoha signálních drah. Jde např. o celou řadu kináz – PKA, PKC, Ca^{2+} /kalmodulin-dependentní protein kinázu II (CaMKII), rodinu mitogeny aktivovaných protein kináz (MAPK), kam řadíme extracelulárním signálem regulované kinázy (ERK), dále PLC, IP_3 receptor, nebo kalmodulin-dependentní izoformy syntázy oxidu dusnatého nNOS a eNOS (Latremoliere a Woolf, 2009; Luo a Cizkova, 2000; Sandkühler, 2007).

Na indukci centrální senzitivace / LTP se významně podílí také substance P, která se společně s glutamátem vylévá z centrálních zakončení C vláken. Jak již bylo řečeno, SP prostřednictvím NK_1 receptorů může způsobit robustní zesílení aktivity NMDA receptorů (Lieberman a Mody, 1998). Nezanedbatelné účinky má rovněž z C vláken uvolňovaný CGRP. Na postsynaptické membráně totiž aktivuje $CGRP_1$ receptory, které prostřednictvím druhých poslů aktivují PKA či PKC, jejichž aktivita přispívá k rozvoji senzitivace a mechanické hyperalgie (Sun a kol., 2004).

V důsledku těchto změn v postsynaptickém neuronu dochází během časně fáze mj. k fosforylaci AMPA receptorů, což vede ke zvýšení jejich vodivosti. Fosforylace receptorů také reguluje jejich přesun do plazmatické membrány (Latremoliere a Woolf, 2009). Fosforylována může být buď GluR1 nebo GluR2 podjednotka. V případě GluR1 je činností PKC či MaPKII fosforylován serinový zbytek Ser831, nebo činností PKA Ser845. U GluR2 podjednotky je za fosforylaci Ser880 zodpovědná PKC (Carvalho a kol., 2000). Fosforylovány jsou také NR1 podjednotky NMDA receptorů, a to činností PKC na Ser890 a Ser896, nebo prostřednictvím PKA na Ser897 (Tingley a kol., 1997). Fosforylace obou těchto receptorů vede k vzrůstu postsynaptické hyperexcitability (Latremoliere a Woolf, 2009).

V druhé, pozdní fázi dochází k aktivaci Ca^{2+} -dependentních drah. Činností již výše uvedených kináz dochází k fosforylaci mnohých transkripčních faktorů, zodpovědných za spuštění transkripce genů, důležitých pro dlouhodobé udržení senzitivace. Mezi ně patří např. geny pro protoonkogen c-Fos, NK_1 receptor, TrkB či cyklooxygenázu COX-2 (Latremoliere a Woolf, 2009).

Mechanismus, který zodpovídá za zvrácení LTP je nazýván synaptická depotenciace. Drdla-Schutting a kol. (2012) ukazují, že LTP může být účinně odstraněna krátkou aplikací vysoké dávky remifentanilu, agonisty μ -opioidních receptorů. μ -receptory aktivují Ca^{2+} -dependentní dráhu, vedoucí např. k aktivaci protein fosfatáz.

Protein fosfatázy PP1/2A defosforylují AMPA kanály, přičemž defosforylace serinového zbytku Ser831 Glur1 podjednotky snižuje vodivost AMPA kanálu na běžnou úroveň. Tím PP1/2A přispívají k potlačení hyperexcitability postsynaptické membrány (Lee a kol., 2000).

8. ZÁVĚR

Přestože výše uvedený popis mechanismů představuje jen zlomek známých dějů, které se podílejí na zpracování bolestivých vjemů, je patrné že i „pouhá“ nocicepce je velice komplexní fyziologický mechanismus, který je v zadních rožích míšních modulován celou řadou integrujících dějů. Bolest jako taková je o to složitější, že se na jejím vzniku podílejí kromě senzorio-diskriminativních složek také složky afektivně-kognitivní.

Modulace synaptického přenosu v oblasti zadního rohu míšního může zcela zásadním způsobem ovlivňovat nociceptivní signalizaci do vyšších center. Odborníci z celého světa vynakládají značné úsilí ve snaze tyto mechanismy objasnit, neboť porozumění těmto mechanismům může v budoucnu pomoci trpícím pacientům s chronickou a neuropatickou bolestí.

Podobně jako jiné obory, také studium bolesti prošlo v posledních dvaceti letech, mj. také díky technickému pokroku, obrovským rozvojem a nárůstem poznání. Základní přístupy pro detailní objasnění molekulárních mechanismů detekce, transdukce, modulace a zpracovávání bolestivých vjemů v současnosti představují, zejména genetické, elektrofyziologické a farmakologické studie. Protože bolest je komplexní jev zahrnující aktivaci různých částí celého nervového systému a zejména také kortikální mechanismy, jsou velmi důležité rovněž behaviorální studie a také moderní zobrazovací techniky typu pozitronové emisní tomografie a funkční magnetické rezonance.

Nárůst v poznání je možné dobře ilustrovat na počtu odborných publikací, evidovaných kupříkladu v databázi *PubMed* pod výrazem „pain“. Před dvaceti lety, v roce 1992 jich bylo kolem 97 tisíc, o deset let později 206 tisíc a v současné době, v roce 2012, už přes 423 tisíc.

Tento nárůst informací může představovat jakousi naději, že se v budoucnu budeme umět lépe vypořádat s chronickou a neuropatickou bolestí, protože jedině důkladné porozumění mechanismům, které se podílejí na vzniku, modulaci a zpracování bolestivých vjemů může být příslibem pro rozvoj nových, vysoce selektivních lokálních analgetik a anestetik, které bude možné využít k léčbě pacientů s chronickými bolestivými stavy a které zároveň nebudou organismus nemocného zatěžovat nežádoucími vedlejšími účinky.

9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ABBRACCHIO, M.P., a BURNSTOCK, G. (1994).** Purinoceptors: Are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacology and Therapeutics* 64, s. 445-475.
- ADLER, J.E., NICO, L., VANDEVORD, P., a SKOFF, A.M. (2009).** Modulation of neuropathic pain by a glial-derived factor. *Pain Medicine* 10, s. 1229-1236.
- AHMADI, S., LIPPROSS, S., NEUHUBER, W.L., a ZEILHOFER, H.U. (2002).** PGE2 selectively blocks inhibitory glycinergic neurotransmission onto rat superficial dorsal horn neurons. *Nature Neuroscience* 5, s. 34-40.
- AIRAKSINEN, M.S., a SAARMA, M. (2002).** The GDNF family: Signalling, biological functions and therapeutic value. *Nature Reviews Neuroscience* 3, s. 383-394.
- ALMEIDA, T.A., ROJO, J., NIETO, P.M., PINTO, F.M., HERNANDEZ, M., MARTÍN, J.D., a CANDENAS, M.L. (2004).** Tachykinins and tachykinin receptors: Structure and activity relationships. *Current Medicinal Chemistry* 11, s. 2045-2081.
- AZKUE, J.J., LIU, X.G., ZIMMERMANN, M., a SANDKÜHLER, J. (2003).** Induction of long-term potentiation of C fibre-evoked spinal field potentials requires recruitment of group I, but not group II/III metabotropic glutamate receptors. *Pain* 106, s. 373-379.
- BARR, S., LAMING, P.R., DICK, J.T.A., a ELWOOD, R.W. (2008).** Nociception or pain in a decapod crustacean? *Animal Behaviour* 75, s. 745-751.
- BASBAUM, A.I., BAUTISTA, D.M., SCHERRER, G., a JULIUS, D. (2009).** Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell* 139, s. 267-284.
- BEICHE, F., SCHEUERER, S., BRUNE, K., GEISLINGER, G., a GOPPELT-STRUEB, M. (1996).** Up-regulation of cyclooxygenase-2 mRNA in the rat spinal cord following peripheral inflammation. *FEBS Letters* 390, s. 165-169.
- BENNETT, D.L.H. (2001).** Neurotrophic factors: Important regulators of nociceptive function. *Neuroscientist* 7, s. 13-17.
- BENNETT, D.L.H., AVERILL, S., CLARY, D.O., PRIESTLEY, J.V., a MCMAHON, S.B. (1996).** Postnatal changes in the expression of the trkA high-affinity NGF receptor in primary sensory neurons. *European Journal of Neuroscience* 8, s. 2204-2208.
- BERKOVITCH, M., COPELIOVITCH, L., TAUBER, T., VAKNIN, Z., a LAHAT, E. (1998).** Hereditary insensitivity to pain with anhidrosis. *Pediatric Neurology* 19, s. 227-229.
- BETTLER, B., KAUPMANN, K., MOSBACHER, J., a GASSMANN, M. (2004).** Molecular structure and physiological functions of GABAB receptors. *Physiological Reviews* 84, s. 835-867.
- BLISS, T.V.P., a COLLINGRIDGE, G.L. (1993).** A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, s. 31-39.
- BODIN, P., a BURNSTOCK, G. (2001).** Purinergic signalling: ATP release. *Neurochemical Research* 26, s. 959-969.
- BOHLHALTER, S., WEINMANN, O., MOHLER, H., a FRITSCHY, J.M. (1996).** Laminar compartmentalization of GABA(A)-receptor subtypes in the spinal cord: An immunohistochemical study. *Journal of Neuroscience* 16, s. 283-297.
- BRADBURY, E.J., BURNSTOCK, G., a MCMAHON, S.B. (1998).** The Expression of P2X3 Purinoceptors in Sensory Neurons: Effects of Axotomy and Glial-Derived Neurotrophic Factor. *Molecular and Cellular Neuroscience* 12, s. 256-268.
- BRADESI, S. (2010).** Role of spinal cord glia in the central processing of peripheral pain perception. *Neurogastroenterology and Motility* 22, s. 499-511.
- BURNSTOCK, G. (2006).** Historical review: ATP as a neurotransmitter. *Trends in Pharmacological Sciences* 27, s. 166-176.
- BURNSTOCK, G. (2009).** Purinergic receptors and pain. *Current Pharmaceutical Design* 15, s. 1717-1735.
- BURNSTOCK, G. (2011).** Introductory overview of purinergic signalling. *Frontiers in bioscience (Elite edition)* 3, s. 896-900.
- CARVALHO, A.L., DUARTE, C.B., a CARVALHO, A.P. (2000).** Regulation of AMPA Receptors by Phosphorylation. *Neurochemical Research* 25, s. 1245-1255.
- CERVERO, F., a LAIRD, J.M.A. (1999).** Visceral pain. *Lancet* 353, s. 2145-2148.
- CHARLTON, C.G., a HELKE, C.J. (1985).** Autoradiographic localization and characterization of spinal cord substance P binding sites: High densities in sensory, autonomic, phrenic, and Onuf's motor nuclei. *Journal of Neuroscience* 5, s. 1653-1661.

- CHEN, S.R., a PAN, H.L. (2006).** Blocking μ opioid receptors in the spinal cord prevents the analgesic action by subsequent systemic opioids. *Brain Research* 1081, s. 119-125.
- CHIECHIO, S., a NICOLETTI, F. (2012).** Metabotropic glutamate receptors and the control of chronic pain. *Current Opinion in Pharmacology* 12, s. 28-34.
- COGGESHALL, R.E., a CARLTON, S.M. (1997).** Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. *Brain Research Reviews* 24, s. 28-66.
- DINGLEDINE, R., BORGES, K., BOWIE, D., a TRAYNELIS, S.F. (1999).** The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews* 51, s. 7-61.
- DRDLA-SCHUTTING, R., BENRATH, J., WUNDERBALDINGER, G., a SANDKÜHLER, J. (2012).** Erasure of a spinal memory trace of pain by a brief, high-dose opioid administration. *Science* 335, s. 235-238.
- DRISSI, H., LASMOLES, F., MELLAY, V.L., MARIE, P.J., a LIEBERHERR, M. (1998).** Activation of phospholipase C- β 1 via $G\alpha(q/11)$ during calcium mobilization by calcitonin gene-related peptide. *Journal of Biological Chemistry* 273, s. 20168-20174.
- DUBIN, A.E., a PATAPOUTIAN, A. (2010).** Nociceptors: The sensors of the pain pathway. *Journal of Clinical Investigation* 120, s. 3760-3772.
- ENGELMAN, H.S., ALLEN, T.B., a MACDERMOTT, A.B. (1999).** The distribution of neurons expressing calcium-permeable AMPA receptors in the superficial laminae of the spinal cord dorsal horn. *Journal of Neuroscience* 19, s. 2081-2089.
- EWALD, D.A., IOK-HOU, P., STERNWEIS, P.C., a MILLER, R.J. (1989).** Differential G protein-mediated coupling of neurotransmitter receptors to Ca^{2+} channels in rat dorsal root ganglion neurons in vitro. *Neuron* 2, s. 1185-1193.
- FERRAGUTI, F., a SHIGEMOTO, R. (2006).** Metabotropic glutamate receptors. *Cell and Tissue Research* 326, s. 483-504.
- GALEAZZA, M.T., GARRY, M.G., YOST, H.J., STRAIT, K.A., HARGREAVES, K.M., a SEYBOLD, V.S. (1995).** Plasticity in the synthesis and storage of substance P and calcitonin gene-related peptide in primary afferent neurons during peripheral inflammation. *Neuroscience* 66, s. 443-458.
- GARRAWAY, S.M., PETRUSKA, J.C., a MENDELL, L.M. (2003).** BDNF sensitizes the response of lamina II neurons to high threshold primary afferent inputs. *European Journal of Neuroscience* 18, s. 2467-2476.
- GEBHART, G.F. (2000).** Visceral pain - Peripheral sensitisation. *Gut* 47, s. 54-55.
- GEREVICH, Z., a ILLES, P. (2004).** P2Y receptors and pain transmission. *Purinergic Signalling* 1, s. 3-10.
- GIOVANNONI, M.P., GHELARDINI, C., VERGELLI, C., a DAL PIAZ, V. (2009).** α 2-agonists as analgesic agents. *Medicinal Research Reviews* 29, s. 339-368.
- GUTOWSKI, S., SMRCKA, A., NOWAK, L., WU, D.G., SIMON, M., a STERNWEIS, P.C. (1991).** Antibodies to the alpha-q-subfamily of guanine nucleotide-binding regulatory protein-alpha subunits attenuate activation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis by hormones. *Journal of Biological Chemistry* 266, s. 20519-20524.
- HAGIHIRA, S., SENBA, E., YOSHIDA, S., TOHYAMA, M., a YOSHIYA, I. (1990).** Fine structure of noradrenergic terminals and their synapses in the rat spinal dorsal horn: An immunohistochemical study. *Brain Research* 526, s. 73-80.
- HARRISON, S., a GEPPETTI, P. (2001).** Substance P. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 33, s. 555-576.
- HARVEY, R.J., DEPNER, U.B., WÄSSLE, H., AHMADI, S., HEINDL, C., REINOLD, H., SMART, T.G., HARVEY, K., SCHÜTZ, B., ABO-SALEM, O.M., et al. (2004).** GlyR α 3: An Essential Target for Spinal PGE2-Mediated Inflammatory Pain Sensitization. *Science* 304, s. 884-887.
- HIDE, I., TANAKA, M., INOUE, A., NAKAJIMA, K., KOHSAKA, S., INOUE, K., a NAKATA, Y. (2000).** Extracellular ATP triggers tumor necrosis factor- α release from rat microglia. *Journal of Neurochemistry* 75, s. 965-972.
- HILL, D.R., a WOODRUFF, G.N. (1990).** Differentiation of central cholecystokinin receptor binding sites using the non-peptide antagonists MK-329 and L-365,260. *Brain Research* 526, s. 276-283.
- HINGTGEN, C.M., WAITE, K.J., a VASKO, M.R. (1995).** Prostaglandins facilitate peptide release from rat sensory neurons by activating the adenosine 3',5'-cyclic monophosphate transduction cascade. *Journal of Neuroscience* 15, s. 5411-5419.
- HUNT, S.P., a ROSSI, J. (1985).** Peptide- and non-peptide-containing unmyelinated primary afferents: the parallel processing of nociceptive information. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological sciences* 308, s. 283-289.
- IKOMA, M., KOHNO, T., a BABA, H. (2007).** Differential presynaptic effects of opioid agonists on A δ - and C- afferent glutamatergic transmission to the spinal dorsal horn. *Anesthesiology* 107, s. 807-812.

- INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN.** *IASP Taxonomy* [online]. 2011 [cit. 2012-05-03]. Dostupné z: <http://www.iasp-pain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/default.htm>
- JONGEN, J.L.M., DALM, E., VECHT, C.J., a HOLSTEGE, J.C. (1999).** Depletion of GDNF from primary afferents in adult rat dorsal horn following peripheral axotomy. *NeuroReport* 10, s. 867-871.
- JULIUS, D., a BASBAUM, A.I. (2001).** Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413, s. 203-210.
- KAMEI, D., YAMAKAWA, K., TAKEGOSHI, Y., MIKAMI-NAKANISHI, M., NAKATANI, Y., OH-ISHI, S., YASUI, H., AZUMA, Y., HIRASAWA, N., OHUCHI, K., et al. (2004).** Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin E synthase-1. *Journal of Biological Chemistry* 279, s. 33684-33695.
- KANDEL, E.R. a SCHWARTZ, J.H. (1985).** *Principles of neural science*. Second edition. New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc., s. 16. ISBN 0-444-00944-2.
- KASK, K., BERTHOLD, M., a BARTFAI, T. (1997).** Galanin receptors: Involvement in feeding, pain, depression and Alzheimer's disease. *Life Sciences* 60, s. 1523-1533.
- KAWABATA, A. (2011).** Prostaglandin E 2 and pain - An update. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 34, s. 1170-1173.
- KERCHNER, G.A., WANG, G.-D., QIU, C.-S., HUETTNER, J.E., a D ZHUO, M. (2001).** Direct Presynaptic Regulation of GABA/Glycine Release by Kainate Receptors in the Dorsal Horn: An Ionotropic Mechanism. *Neuron* 32, s. 477-488.
- KERR, B.J., BRADBURY, E.J., BENNETT, D.L.H., TRIVEDI, P.M., DASSAN, P., FRENCH, J., SHELTON, D.B., MCMAHON, S.B., a THOMPSON, S.W.N. (1999).** Brain-derived neurotrophic factor modulates nociceptive sensory inputs and NMDA-evoked responses in the rat spinal cord. *Journal of Neuroscience* 19, s. 5138-5148.
- KHAWAJA, A.M., a ROGERS, D.F. (1996).** Tachykinins: Receptor to effector. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 28, s. 721-738.
- KOHNO, T., JI, R.R., ITO, N., ALLCHORNE, A.J., BEFORT, K., KARCHEWSKI, L.A., a WOOLF, C.J. (2005).** Peripheral axonal injury results in reduced μ opioid receptor pre- and post-synaptic action in the spinal cord. *Pain* 117, s. 77-87.
- KYELS, A.E., WATERMAN, A.E., a LIVINGSTON, A. (1993).** The spinal antinociceptive activity of the α 2-adrenoceptor agonist, xylazine in sheep. *British Journal of Pharmacology* 108, s. 907-913.
- LATREMOLIERE, A., a WOOLF, C.J. (2009).** Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity. *Journal of Pain* 10, s. 895-926.
- LATREMOLIERE, A., a WOOLF, C.J. (2010).** Synaptic Plasticity and Central Sensitization: Author Reply. *Journal of Pain* 11, s. 801-803.
- LAZAR, P., REDDINGTON, M., STREIT, W., RAIVICH, G., a KREUTZBERG, G.W. (1991).** The action of calcitonin gene-related peptide on astrocyte morphology and cyclic AMP accumulation in astrocyte cultures from neonatal rat brain. *Neuroscience Letters* 130, s. 99-102.
- LEE, H.K., BARBAROSIE, M., KAMEYAMA, K., BEAR, M.F., a HUGANIR, R.L. (2000).** Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* 405, s. 955-959.
- LEEB-LUNDBERG, L.M.F., MARCEAU, F., MÜLLER-ESTERL, W., PETTIBONE, D.J., a ZURAW, B.L. (2005).** International union of pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: From molecular mechanisms to pathophysiological consequences. *Pharmacological Reviews* 57, s. 27-77.
- LEMONS, L.L., a WILEY, R.G. (2011).** Galanin receptor-expressing dorsal horn neurons: Role in nociception. *Neuropeptides* 45, s. 377-383.
- LEWIN, G.R., a MOSHOURAB, R. (2004).** Mechanosensation and pain. *Journal of Neurobiology* 61, s. 30-44.
- LI, P., WILDING, T.J., KIM, S.J., CALEJESAN, A.A., HUETTNER, J.E., a ZHUO, M. (1999).** Kainate-receptor-mediated sensory synaptic transmission in mammalian spinal cord. *Nature* 397, s. 161-164.
- LIEBERMAN, D.N., a MODY, I. (1998).** Substance P enhances NMDA channel function in hippocampal dentate gyms granule cells. *Journal of Neurophysiology* 80, s. 113-119.
- LIN, C.R., AMAYA, F., BARRETT, L., WANG, H., TAKADA, J., SAMAD, T.A., a WOOLF, C.J. (2006).** Prostaglandin E2 receptor EP4 contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 319, s. 1096-1103.
- LIU, X.G., a SANDKUHLER, J. (1995).** Long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in the rat spinal dorsal horn is prevented by spinal N-methyl-D-aspartic acid receptor blockage. *Neuroscience Letters* 191, s. 43-46.
- LOPES, P., KAR, S., CHRETIEN, L., REGOLI, D., QUIRION, R., a COUTURE, R. (1995).** Quantitative autoradiographic localization of [125I-TYR8]bradykinin receptor binding sites in the rat spinal cord: Effects

- of neonatal capsaicin, noradrenergic deafferentation, dorsal rhizotomy and peripheral axotomy. *Neuroscience* 68, s. 867-881.
- LUO, L. (1995).** The effects of pretreatment with tachykinin antagonists and galanin on the development of spinal cord hyperexcitability following sciatic nerve section in the rat. *Neuropeptides* 28, s. 161-166.
- LUO, Z.D., a CIZKOVA, D. (2000).** The role of nitric oxide in nociception. *Current review of pain* 4, s. 459-466.
- LYNCH, J.W. (2009).** Native glycine receptor subtypes and their physiological roles. *Neuropharmacology* 56, s. 303-309.
- MA, Q.P., a WOOLF, C.J. (1995).** Noxious stimuli induce an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent hypersensitivity of the flexion withdrawal reflex to touch: Implications for the treatment of mechanical allodynia. *Pain* 61, s. 383-390.
- MARKER, C.L., LUJÁN, R., LOH, H.H., a WICKMAN, K. (2005).** Spinal G-protein-gated potassium channels contribute in a dose-dependent manner to the analgesic effect of μ - and δ -but not κ -opioids. *Journal of Neuroscience* 25, s. 3551-3559.
- MASON, P. (1999).** Central mechanisms of pain modulation. *Current Opinion in Neurobiology* 9, s. 436-441.
- MATSUMURA, K., WATANABE, Y., IMAI-MATSUMURA, K., CONNOLLY, M., KOYAMA, Y., a ONOE, H. (1992).** Mapping of prostaglandin E2 binding sites in rat brain using quantitative autoradiography. *Brain Research* 581, s. 292-298.
- MILLAN, M.J. (1995).** Serotonin (5-HT) and pain: A reappraisal of its role in the light of receptor multiplicity. *Seminars in the Neurosciences* 7, s. 409-419.
- MILLAN, M.J. (1999).** The induction of pain: An integrative review. *Progress in Neurobiology* 57, s. 1-164.
- MILLAN, M.J. (2002).** Descending control of pain. *Progress in Neurobiology* 66, s. s. 355-474.
- MOISES, H.C., RUSIN, K.I., a MACDONALD, R.L. (1994).** μ -Opioid receptor-mediated reduction of neuronal calcium current occurs via a G(o)-type GTP-binding protein. *Journal of Neuroscience* 14, s. 3842-3851.
- MOORE, K.A., KOHNO, T., KARCHEWSKI, L.A., SCHOLZ, J., BABA, H., a WOOLF, C.J. (2002).** Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord. *Journal of Neuroscience* 22, s. 6724-6731.
- NAGASAKO, E.M., OAKLANDER, A.L., a DWORKIN, R.H. (2003).** Congenital insensitivity to pain: An update. *Pain* 101, s. 213-219.
- NARUMIYA, S., SUGIMOTO, Y., a USHIKUBI, F. (1999).** Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiological Reviews* 79, s. 1193-1226.
- OHARA, P.T., VIT, J.P., BHARGAVA, A., ROMERO, M., SUNDBERG, C., CHARLES, A.C., a JASMIN, L. (2009).** Gliopathic pain: When satellite glial cells go bad. *Neuroscientist* 15, s. 450-463.
- PALEČEK, J. (2004).** The Role of Dorsal Columns Pathway in Visceral Pain. *Physiological Research* 53, s. 125-130.
- PALEČEK, J., VONDRÁČKOVÁ, D., A NAVRÁTIL, L. (2006).** Viscerální bolest. ROKYTA, R. *et al. Bolest*. Praha: Tigris, spol. s r. o., s. 267-277. ISBN 80-235 00000-0-0.
- PEDERSEN-BJERGAARD, U., BOGESKOV NIELSEN, L., JENSEN, K., EDVINSSON, L., JANSEN, I., a OLESEN, J. (1991).** Calcitonin gene-related peptide, neurokinin A and substance P: Effects on nociception and neurogenic inflammation in human skin and temporal muscle. *Peptides* 12, s. 333-337.
- PIN, J.P., a DUVOISIN, R. (1995).** The metabotropic glutamate receptors: Structure and functions. *Neuropharmacology* 34, s. 1-26.
- PRICE, D.D., a DUBNER, R. (1977).** Mechanisms of first and second pain in the peripheral and central nervous systems. *Journal of Investigative Dermatology* 69, s. 167-171.
- PRZEWLOCKI, R., a PRZEWLOCKA, B. (2001).** Opioids in chronic pain. *European Journal of Pharmacology* 429, s. 79-91.
- QIAN, Y., CHAO, D.S., SANTILLANO, D.R., CORNWELL, T.L., NAIRN, A.C., GREENGARD, P., LINCOLN, T.M., a BREDET, D.S. (1996).** cGMP-dependent protein kinase in dorsal root ganglion: Relationship with nitric oxide synthase and nociceptive neurons. *Journal of Neuroscience* 16, s. 3130-3138.
- RAGHAVENDRA, V., TANGA, F.Y., a DELEO, J.A. (2004).** Complete Freund's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS. *European Journal of Neuroscience* 20, s. 467-473.
- REXED, B. (1952).** The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *The Journal of comparative neurology* 96, s. 414-495.
- REXED LAMINAE.** In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001-2012 [cit. 2012-02-27]. Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Medulla_spinalis_-_Substantia_grisea_-_English.svg

- ROBERTSON, S.J., ENNION, S.J., EVANS, R.J., a EDWARDS, F.A. (2001).** Synaptic P2X receptors. *Current Opinion in Neurobiology* 11, s. 378-386.
- RUAN, H.Z., a BURNSTOCK, G. (2003).** Localisation of P2Y1 and P2Y4 receptors in dorsal root, nodose and trigeminal ganglia of the rat. *Histochemistry and Cell Biology* 120, s. 415-426.
- SAMAD, T.A., MOORE, K.A., SAPIRSTEIN, A., BILLET, S., ALLCHORNE, A., POOLE, S., BONVENTRE, J.V., a WOOLF, C.J. (2001).** Interleukin-1 β -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature* 410, s. 471-475.
- SANDKÜHLER, J. (2010).** Central Sensitization Versus Synaptic Long-Term Potentiation (LTP): A Critical Comment. *Journal of Pain* 11, s. 798-800.
- SANDKÜHLER, J. (2007).** Understanding LTP in pain pathways. *Molecular Pain* 3, Art. No.: 9.
- SCHMIDTKO, A., GAO, W., KÖNIG, P., HEINE, S., MOTTERLINI, R., RUTH, P., SCHLOSSMANN, J., KOESLING, D., NIEDERBERGER, E., TEGEDER, I., et al. (2008).** cGMP produced by NO-sensitive guanylyl cyclase essentially contributes to inflammatory and neuropathic pain by using targets different from cGMP-dependent protein kinase I. *Journal of Neuroscience* 28, s. 8568-8576.
- SCHMIDTKO, A., TEGEDER, I., a GEISSLINGER, G. (2009).** No NO, no pain? The role of nitric oxide and cGMP in spinal pain processing. *Trends in Neurosciences* 32, s. 339-346.
- SCHOLZ, J., a WOOLF, C.J. (2002).** Can we conquer pain? *Nature Neuroscience* 5, s. 1062-1067.
- SIEGHART, W., a SPERK, G. (2002).** Subunit composition, distribution and function of GABA(A) receptor subtypes. *Current topics in medicinal chemistry* 2, s. 795-816.
- SIVILOTTI, L., a WOOLF, C.J. (1994).** The contribution of GABA(A) and glycine receptors to central sensitization: Disinhibition and touch-evoked allodynia in the spinal cord. *Journal of Neurophysiology* 72, s. 169-179.
- SMITH, E.S., a LEWIN, G.R. (2009).** Nociceptors: a phylogenetic view. *Journal of comparative physiology. A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology* 195, s. 1089-1106.
- SMITH, K.E., WALKER, M.W., ARTYMYSHYN, R., BARD, J., BOROWSKY, B., TAMM, J.A., YAO, W.J., VAYSSE, P.J.J., BRANCHEK, T.A., GERALD, C., a JONES, K.A. (1998).** Cloned human and rat galanin GALR3 receptors: Pharmacology and activation of G-protein inwardly rectifying K⁺ channels. *Journal of Biological Chemistry* 273, s. 23321-23326.
- SNIDER, W.D., a MCMAHON, S.B. (1998).** Tackling pain at the source: New ideas about nociceptors. *Neuron* 20, s. 629-632.
- STEEDS, C.E. (2009).** The anatomy and physiology of pain. *Surgery* 27, s. 507-511.
- STEIN, C., HASSAN, A.H.S., PRZEWLOCKI, R., GRAMSCH, C., PETER, K., a HERZ, A. (1990).** Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87, s. 5935-5939.
- SUN, R.Q., TU, Y.J., LAWAND, N.B., YAN, J.Y., LIN, Q., a WILLIS, W.D. (2004).** Calcitonin gene-related peptide receptor activation produces PKA- and PKC-dependent mechanical hyperalgesia and central sensitization. *Journal of Neurophysiology* 92, s. 2859-2866.
- SWEITZER, S.M., COLBURN, R.W., RUTKOWSKI, M., a DELEO, J.A. (1999).** Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1 β expression that correlates with pain behavior in the rat. *Brain Research* 829, s. 209-221.
- TEXAS HISTOPAGES, Inc.** *Atlas of Laboratory Mouse Histology: Spinal Ganglion, 40X* [online]. 2004 [cit. 2012-05-03]. Dostupné z: <http://ctrngenpath.net/static/atlas/mousehistology/Windows/nervous/ganglion40.html>
- TINGLEY, W.G., EHLERS, M.D., KAMEYAMA, K., DOHERTY, C., PTAK, J.B., RILEY, C.T., a HUGANIR, R.L. (1997).** Characterization of protein kinase A and protein kinase C phosphorylation of the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 subunit using phosphorylation site-specific antibodies. *Journal of Biological Chemistry* 272, s. 5157-5166.
- TRAUB, R.J. (1996).** The spinal contribution of substance P to the generation and maintenance of inflammatory hyperalgesia in the rat. *Pain* 67, s. 151-161.
- TSCHOPP, F.A., HENKE, H., a PETERMANN, J.B. (1985).** Calcitonin gene-related peptide and its binding sites in the human central nervous system and pituitary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82, s. 248-252.
- UENO, S., TSUDA, M., IWANAGA, T., a INOUE, K. (1999).** Cell type-specific ATP-activated responses in rat dorsal root ganglion neurons. *British Journal of Pharmacology* 126, s. 429-436.

- VAN ROSSUM, D., HANISCH, U.K., a QUIRION, R. (1997).** Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 21, s. 649-678.
- WANG, S., HASHEMI, T., FRIED, S., CLEMMONS, A.L., a HAWES, B.E. (1998).** Differential intracellular signaling of the GalR1 and GalR2 galanin receptor subtypes. *Biochemistry* 37, s. 6711-6717.
- WESTLUND, K.N., BOWKER, R.M., ZIEGLER, M.G., a COULTER, J.D. (1983).** Noradrenergic projections to the spinal cord of the rat. *Brain Research* 263, s. 15-31.
- WIESELER-FRANK, J., MAIER, S.F., a WATKINS, L.R. (2004).** Glial activation and pathological pain. *Neurochemistry International* 45, s. 389-395.
- WIESENFELD-HALLIN, Z., XU, X.J., a HÖKFELT, T. (2002).** The role of spinal cholecystokinin in chronic pain states. *Pharmacology and Toxicology* 91, s. 398-403.
- WOOLF, C.J. (2004).** Dissecting out mechanisms responsible for peripheral neuropathic pain: Implications for diagnosis and therapy. *Life Sciences* 74, s. 2605-2610.
- WOOLF, C.J. (2011).** Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152, s. S2-S15.
- WOOLF, C.J., a MA, Q. (2007).** Nociceptors-Noxious Stimulus Detectors. *Neuron* 55, s. 353-364.
- WOOLF, C.J., SAFIEH-GARABEDIAN, B., MA, Q.P., CRILLY, P., a WINTERS, J. (1994).** Nerve growth factor contributes to the generation of inflammatory sensory hypersensitivity. *Neuroscience* 62, s. 327-331.
- WOOLF, C.J., a SALTER, M.W. (2000).** Neuronal plasticity: Increasing the gain in pain. *Science* 288, s. 1765-1768.
- WU, J., FANG, L., LIN, Q., a WILLIS, W.D. (2001).** Nitric oxide synthase in spinal cord central sensitization following intradermal injection of capsaicin. *Pain* 94, s. 47-58.
- XIN, W.J., WENG, H.R., a DOUGHERTY, P.M. (2009).** Plasticity in expression of the glutamate transporters GLT-1 and GLAST in spinal dorsal horn glial cells following partial sciatic nerve ligation. *Molecular Pain* 5, Art. No.: 15.
- XIONG, Z.Q., a STRINGER, J.L. (2000).** Sodium pump activity, not glial spatial buffering, clears potassium after epileptiform activity induced in the dentate gyrus. *Journal of Neurophysiology* 83, s. 1443-1451.
- XU, X.J., HÖKFELT, T., a WIESENFELD-HALLIN, Z. (2008).** Galanin and spinal pain mechanisms: Where do we stand in 2008? *Cellular and Molecular Life Sciences* 65, s. 1813-1819.
- XU, X.J., PUKE, M.J.C., VERGE, V.M.K., WIESENFELD-HALLIN, Z., HUGHES, J., a HOKFELT, T. (1993).** Up-regulation of cholecystokinin in primary sensory neurons is associated with morphine insensitivity in experimental neuropathic pain in the rat. *Neuroscience Letters* 152, s. 129-132.
- XU, Z.Q., SHI, T.J., LANDRY, M., a HÖKFELT, T. (1997a).** Evidence for galanin receptors in primary sensory neurones and effect of axotomy and inflammation. *NeuroReport* 8, s. 237-242.
- XU, Z.Q.D., ZHANG, X., GRILLNER, S., a HÖKFELT, T. (1997b).** Electrophysiological studies on rat dorsal root ganglion neurons after peripheral axotomy: Changes in responses to neuropeptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, s. 13262-13266.
- YASHPAL, K., DAM, T.V., a QUIRION, R. (1991).** Effects of dorsal rhizotomy on neurokinin receptor sub-types in the rat spinal cord: A quantitative autoradiographic study. *Brain Research* 552, s. 240-247.
- YASHPAL, K., KAR, S., DENNIS, T., a QUIRION, R. (1992).** Quantitative autoradiographic distribution of calcitonin gene-related peptide (hCGRP α) binding sites in the rat and monkey spinal cord. *Journal of Comparative Neurology* 322, s. 224-232.
- YOSHIMURA, M., a FURUE, H. (2006).** Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *Journal of Pharmacological Sciences* 101, s. 107-117.
- ZEILHOFER, H.U. (2005).** Synaptic modulation in pain pathways. *Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology* 154, s. 73-100
- ZERARIA, F., DÉRY, O., FISCHER, J., FROBERT, Y., COURAUD, J.Y., a CONRATH, M. (1995).** Ultrastructural study of substance P receptors in the dorsal horn of the rat spinal cord using monoclonal anti-complementary peptide antibody. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 9, s. 65-77.
- ZHUO, M., a GEBHART, G.F. (1997).** Biphasic modulation of spinal nociceptive transmission from the medullary raphe nuclei in the rat. *Journal of Neurophysiology* 78, s. 746-758.