

ABSTRAKT

První synapse nociceptivní dráhy v zadním rohu míšním představuje významné místo pro modulaci nociceptivní signalizace za patologických stavů. Jedním z modulačních mechanismů jsou změny funkce receptoru TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid 1*), který je exprimován na centrálních zakončeních nociceptivních neuronů a svou činností přímo reguluje výlev neuropřenašečů a neuromodulátorů. Předchozí studie ukázaly úlohu TRPV1 v účincích zánětlivého chemokinu CCL2 (*C-C motif ligand 2*) a po aktivaci μ -opioidního receptoru (MOP-R) na míšní úrovni. Protože receptory CCR2 (aktivovány CCL2), TRPV1 a MOP-R často kolokalizují v neuronech spinálních ganglií, cílem tohoto projektu bylo studovat jejich možné interakce při modulaci nociceptivního přenosu v míše. Tato diplomová práce se zabývala zejména vlivem chemokinu CCL2 na senzitivizaci spinálních TRPV1 u modelu periferní neuropatie a jeho vlivem na synaptický přenos po aktivaci μ -opioidních receptorů.

Ke studiu synaptického přenosu bylo využito snímání excitačních postsynaptických proudů (EPSC) pomocí metody *patch-clamp* z povrchových neuronů zadního rohu míšního na řezech lumbální míchy potkana. U těchto neuronů byla v závěru experimentu prokázána přítomnost TRPV1 pozitivních synapsí pomocí aplikace kapsaicinu. V první části experimentu byla měření prováděna na neuronech izolovaných ze zvířat s experimentálně navozenou periferní neuropatií. Zde došlo ke zvýšení frekvence mEPSC po podání TRPV1 agonisty OLDA (N-oleoyl dopamin) v nízké koncentraci (0.2 μ M), která je u naivních neuronů neúčinná. Tím byla potvrzena senzitivizace TRPV1 receptorů za podmínek periferní neuropatie. V neuronech z neuropatických zvířat inkubovaných s CCL2 byla pozorována vyšší bazální frekvence i amplitudy EPSC, a také silnější reakce na aplikaci OLDA, která však byla vysoce variabilní u jednotlivých měřených buněk. Druhá část experimentu byla prováděna na neuronech izolovaných z naivních zvířat, kde byl testován vliv agonisty MOP-R (D-Ala²,N-Me-Phe⁴,Gly-ol⁵)-enkefalin (DAMGO). V kontrolní skupině byl pozorován dlouhotrvající inhibiční účinek aktivace MOP-R, který se projevil na frekvenci, a nikoliv na amplitudě mEPSC. Předchozí inkubace s CCL2 vedla ke snížení účinku DAMGO na frekvenci mEPSC, zatímco akutní aplikace CCL2 měla mnohem slabší efekt. Naše výsledky naznačují, že TRPV1, CCL2 a MOP-R mohou interagovat na aferentních zakončeních v první nociceptivní synapsi v zadním rohu míšním, pravděpodobně díky aktivaci různých nitrobuněčných mechanismů, čímž mohou výrazně ovlivňovat modulaci nociceptivní signalizace za patologických stavů.

Klíčová slova: TRPV1, CCL2, μ -opioidní receptor, OLDA, DAMGO, zadní roh míšní, nocicepce