

Ból spełnia rolę ostrzegawczo-obronną i jest sygnałem potencjalnego zagrożenia. Aby zminimalizować skutki uszkodzenia wywołanego odruchową i behawioralną odpowiedź organizmu. Ale są jednak takie sytuacje, gdy ból przestaje być sygnałem ostrzegawczym, jednocześnie nie staje się źródłem cierpienia, jak również czynnikiem obniżającym jakość życia człowieka. Takim zjawiskiem jest ból przewlekły, który trwa po zabiegu operacyjnym czy też pomimo wygojenia tkanek po urazie i takie towarzyszy chorobom przewlekłym jak np. choroba nowotworowa, cukrzyca czy choroba zwyrodnieniowa stawów. Wówczas mamy do czynienia z taką sytuacją, gdy doznania bólowe tracą swój ostrzegawczo-obronny charakter i ból staje się chorobą sam w sobie i wymaga kompleksowego i wielokierunkowego postępowania. Wpływa to na obniżenie jakości życia związane ze zdrowiem, negatywnie oddziałuje na emocjonalne, fizyczne i socjalne funkcjonowanie człowieka, obciąża system opieki zdrowotnej, generując koszty społeczne i ekonomiczne. Znaczne wyzwania terapeutyczne stanowi ból neuropatyczny wywołany pierwotnym uszkodzeniem lub dysfunkcją w obwodowym lub ośrodkowym układzie nerwowym. Jedynie u połowy pacjentów udaje się osiągnąć znaczącą ulgę. U wielu bowiem jest oporny na leczenie przeciwbólowe a także wiesz o tym że do wiadczenia przez nich działają niepożądanych lub złej tolerancji leków stosowanych w bólu neuropatycznym. Pomimo licznych badań prowadzonych na całym świecie oraz niewątpliwego postępu medycyny ból ten jest w dalszym ciągu dużym problemem terapeutycznym.

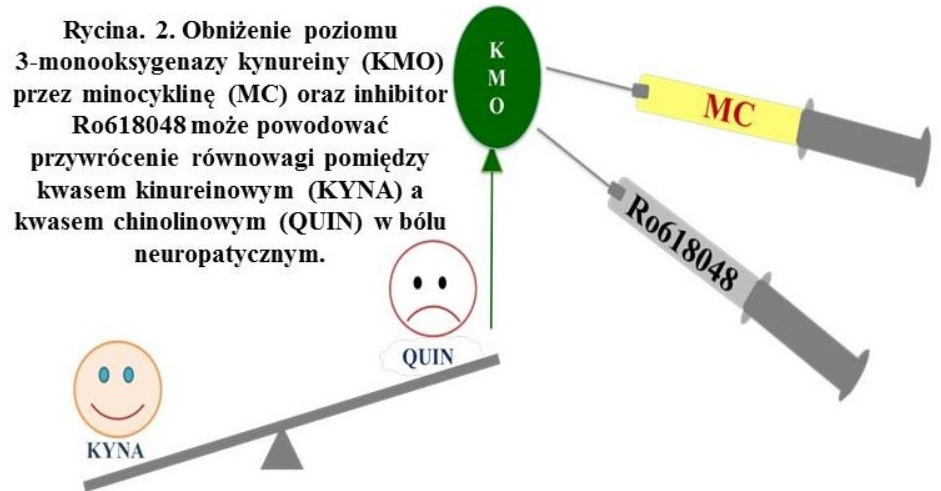


**Rycina 1. Szlak kinureninowy – potencjalny wpływ na rozwój bólu neuropatycznego.**

Dlatego tak ważną jest badanie mechanizmów bólu i odkrywanie nowych punktów uchwytu w jego terapii. Wykorzystując liczne modele zwierzęce prowadzi się analizy zmian które zachodzą na skutek uszkodzenia w celu znalezienia skutecznej formy terapii. W naszym Zakładzie od lat wykorzystujemy model uszkodzenia nerwu kulszowego, tzw. model Bennetta. Badania z wykorzystaniem profilowania ekspresji genów, jak i analizy metod spektrometrii masowej wskazują, że w bólu neuropatycznym dochodzi do silnej aktywacji niektórych genów neuronalnych, jak również genów związanych z odpowiedzią komórek immunologicznych, w tym z aktywacją mikrogleju. Ostatnie badania opublikowane w Molecular Pain w 2014 roku umożliwiły nam poznanie transkryptów zmieniających się po uszkodzeniu nerwu kulszowego, jak również po wielokrotnych dootrzewnowych podaniach minocykliny w tym modelu. Założeniem zastosowania metody mikromacierzy DNA było wykazanie obecności transkryptów genów w 1 dniowym odcinku rdzenia kręgowego zmieniających się po uszkodzeniu. Kolejnym krokiem było wyselekcjonowanie transkryptów modulowanych po podaniach minocykliny. Odkrycie z tych transkryptów w bólu neuropatycznym nie wiadomo nic, co skłania do dalszych badań oraz otwiera interesujące możliwości szukania skutecznej terapii bólu. Jeden z tych genów - KMO (3-monooksygenaza kinureiny; enzym szlaku kinureninowego) stał się przedmiotem dalszych badań, które są głównym tematem projektu. Dotychczas opublikowane dane sugerują, że ten enzym odgrywa istotną rolę w patologii wielu chorób autoimmunologicznych i neurodegeneracyjnych, natomiast jego rola w bólu neuropatycznym jest dotychczas nieznana. Kluczowym punktem w grancie będzie zbadanie wpływu uszkodzenia inicjującego ból neuropatycznym zmiany w aktywności enzymów i produktów tego szlaku kinureninowego. Jak wynika z naszych wcześniejszych badań aktywność jednego z enzymów szlaku kinureninowego - KMO ulega nasileniu w bólu neuropatycznym. Wydaje się, że inne enzymy szlaku kinureninowego, mogą w istotny sposób wpływać na procesy nocycepcji, dlatego chcemy podjąć próby ich modulacji. W ramach zadań badawczych przedstawionych w grancie chcemy zbadać czy enzym KMO przechyla balans w kierunku toksycznego kwasu chinolinowego - Quin. Zahamowanie aktywności enzymów tego ki neurotoksycznej szlaku może mieć właściwości neuroprotektoryjne i być jednym ze sposobów ochrony neuronów przed uszkodzeniami, co jest kluczowym założeniem naszej hipotezy. Proponujemy również, że wzmocnienie aktywności neuroprotektoryjnej poprzez zwiększenie ilości wydzielanego kwasu kinureninowego może wywoływać efekty przeciwbólowe. W tym celu projektu będzie oznaczenie komórkowego źródła produktów lub/i enzymów szlaku kinureninowego w hodowli pierwotnej mikrogleju i astrogleju. Po określeniu komórkowego źródła wybranych produktów lub enzymów szlaku kinureninowego planujemy zastosowanie inhibitorów mikrogleju lub/i

astrocytów. W zadaniu tym chcemy uzyskać odpowiedź na pytanie czy zahamowanie aktywacji mikrogleju i astrogleju po podaniach inhibitorów – minocykliny oraz fluorocytrynianu, odpowiednio, wpływa na procesy nocycepcji. Równoległe do badań behawioralnych zastosowane będą testy biochemiczne w celu określenia wpływu zahamowania aktywacji gleju na poziom aktywności enzymów i produktów szlaku kinureninowego. Nasza hipoteza zakłada, że aktywacja kwasu kinureninowego zachodzi w astrocytach może wywoływać efekty neuroprotecyjne i przeciwbólowe. Natomiast zwiększenie aktywności enzymu KMO prowadzi do wytwarzania toksycznych produktów szlaku (np. kwasu chinolinowego), przez co nasila doznania bólowe. Zahamowanie aktywności KMO poprzez podania inhibitora – np. Ro618048 czy też podania minocykliny może wykazywać działanie neuroprotecyjne chroniąc neurony a w przyszłości może mieć ogromne znaczenie terapeutyczne (Rycina 2). Zatem powstał sobie pomysł na zbadanie czy farmakologiczna modulacja zmian w aktywacji czynnika neurotoksycznej oraz neuroprotekcji szlaku kinureninowego może hamować rozwój bólu. W projekcie planujemy także badania biochemiczne zmian aktywności białka i/lub poziomu mRNA po modulacji szlaku kinureninowego. Uzyskane wyniki pozwolą na poznanie zmian szerokiego spektrum metabolitów tryptofanu należących do szlaku kinureninowego oraz uzupełnią podstawową wiedzę z zakresu funkcjonowania organizmu w normie i patologii. Wstępne, nieliczne badania dotyczące możliwości modyfikacji szlaku kinureninowego w chorobach neurodegeneracyjnych budzą ogromne nadzieje na ich kliniczne wykorzystanie w przyszłości. Mamy nadzieję, że znajdzie zastosowanie także w neuropatii. Wyniki uzyskane z realizacji zadań badawczych przedstawione w niniejszym projekcie będą uzupełniały dotychczasową wiedzę dotyczącą mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój i utrzymywanie się symptomów bólu neuropatycznego i związanych z tym problemów terapeutycznych. Wydaje się, że farmakologiczna modulacja szlaku kinureninowego może przynieść w przyszłości dobre efekty terapeutyczne. Dlatego chcemy podjąć próby wskazania najistotniejszych dla bólu etapów szlaku kinureninowego. Jest to zagadnienie niezwykle ważne dla jakichś współczesnych, starszych społeczeństw, gdy leczenie bólu neuropatycznego mimo systematycznego wprowadzania do terapii nowych technik i leków nie jest satysfakcjonujące. Mamy nadzieję, że otrzymane rezultaty będą podstawą do prób farmakologicznej modulacji tych zmian i zbadanie ich wpływu na rozwój bólu neuropatycznego. Wyniki pozwolą na poznanie zachowania się szerokiego spektrum metabolitów tryptofanu należących do szlaku kinureninowego.

Obecnie jest jeszcze za wcześnie aby określić zastosowanie jakichś inhibitorów czy stymulatorów tego szlaku może mieć znaczenie w diagnostyce i terapii. Dlatego niedługo się wstępne badania stanowiące podstawowe zagadnienie niniejszego projektu. Projekt będzie więc z jednej strony określał mechanizmy powstawania bólu przewlekłego, a z drugiej poszukiwał nowych punktów uchwytu dla jego terapii. Jest to istotne zagadnienie, gdy dolegliwości towarzyszące bólowi w istotnym stopniu obniżają jakość życia pacjentów i możliwości ich codziennego funkcjonowania. Jak wynika z danych literaturowych skuteczność leczenia bólu neuropatycznego mimo systematycznego wprowadzania do terapii nowych technik i leków oraz ciągłego poszukiwania bardziej efektywnych opcji terapeutycznych nie jest satysfakcjonująca.



literaturowych skuteczność leczenia bólu neuropatycznego mimo systematycznego wprowadzania do terapii nowych technik i leków oraz ciągłego poszukiwania bardziej efektywnych opcji terapeutycznych nie jest satysfakcjonująca.