Rola antagonistów glutaminianergicznych receptorów metabotropowych w eksperymentalnym bólu neuropatycznym u zwierząt

BOGDAN FELIKS KANIA, URSZULA BRACHA, GRZEGORZ LONC*, TOMASZ WOJNAR*

Instytut Weterynarii, Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

*Zakład Anatomii i Patomorfologii UCMW UJ-UR,
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Otrzymano 16.03.2020

Zaakceptowano 29.05.2020

Kania B. F., Bracha U., Lonc G., Wojnar T.

Significance of metabotropic glutamate receptor antagonists in experimental neuropathic pain in animals

Summary

Neuropathic pain is a serious therapeutic problem. Current therapy is often ineffective, and the available drugs have serious side effects. For these reasons, the search for alternative therapeutic solutions is underway. Recent research on metabotropic receptors for glutamic acid (mGluR) gives great hope for the development of a new type of drug in the treatment of neuropathic pain. Particularly promising are antagonists of mGluR group I receptors. There are many studies demonstrating the efficacy of non-competitive mGlu1 and mGlu5 receptor antagonists in animal models of neuropathic pain. The purpose of this study was to gather information obtained from research on the role of mGluR antagonists in neuropathic pain. The blockade of intracellular glutamatergic receptor could represent a new strategy for the development of effective therapies for neuropathic pain.

Keywords: neuropathic pain, glutamate, mGluR, mGluR1-, mGluR5- antagonists

Ból jest zjawiskiem wszechobecnym istot żywych, w tym również roślin (38). Ból jest kompleksowym, wielowymiarowym doświadczeniem (angażującym czynniki czuciowe i emocjonalne), a więc stanowi zjawisko fizyczne, jak i psychiczne. Oficjalna definicja bólu wg International Association for the Study of Pain (IASP) podaje, że ból to „nieprzyjemne doświadczenie czuciowe i emocjonalne, związane z aktualnym lub potencjalnym uszkodzeniem tkanek lub opisane w kategoriach takich uszkodzeń” (28).

U roślin, pomimo braku układu nerwowego, ból, będąc czynnikiem stresogennym, w miejscu działania wywołuje uwolnienie kwasu glutaminowego (Glu), który poprzez pobudzanie struktur podobnych receptorom glutaminianergicznym (GluR) kręgowców powoduje pobudzenie receptora jonotropowego Glu (iGluR). Ten uruchamia kaskadę uwalniania jonów Ca^{2+} , które rozprzestrzeniają się do komórek znajdujących się daleko od miejsca zadziałania czynnika uszkadzającego (*noxa*). W komórkach docelowych tkanek dochodzi do uwalniania hormonów tkankowych włączających systemy ochronne (system alarmowy) niezbędne do obrony przed bólem/stresem (28).

Ze względu na patomechanizmy wywoływania bólu wyróżnia się m.in. następujące jego rodzaje: ból ostry (łagodny, umiarkowany, intensywny, bardzo intensywny), przewlekły, receptorowy (nocyceptywny – somatyczny, trzewny – rozlany, rzutowany) i ekstrareceptorowy zwany niereceptorowym albo neuropatycznym, który jest bólem przewlekłym. Jest on bólem spowodowanym uszkodzeniem OUN i/lub ObUN w następstwie uszkodzeń, infekcji, niedokrwienia, niedotlenienia, zaburzeń metabolicznych i/lub bujania nowotworowego. Ból ten nie ma wielu odniesień eksperymentalnych ułatwiających pomoc cierpiącym zwierzętom, dlatego podjęto się przygotowania takiego opracowania, by przekonać czytelników do nowoczesnego postępowania w profilaktyce i leczeniu bólu neuropatycznego u zwierząt. Tym bardziej, że w leczeniu tego bólu u 50% pacjentów uzyskuje się w 30-50% skuteczne ograniczenie bólu po stosowaniu różnych leków (36, 37).

Definicja bólu neuropatycznego

Ból neuropatyczny to szczególny rodzaj bólu spowodowanego przez pierwotną zmianę (uszkodzenie) lub

dysfunkcję somato-sensorycznej części ośrodkowego (OUN, ośrodkowy ból neuropatyczny) lub obwodowego układu nerwowego (ObUN, ból neuropatyczny obwodowy) bądź układu współczulnego (ból z komponentą współczulną), a wiąże się z urazami korzeni nerwów czy pourazowym wyrwaniem spłotów oraz patologiami w obrębie układu nerwowego (1, 26). Każdy ból przewlekły może przekształcić się w ból tła nerwowego ze względu na ciągle pobudzenie nocycyptywnych receptorów oraz wynikające z niego zmiany w funkcjonowaniu układu nerwowego (22).

Ból odczuwany przy *osteoarthritis* ma zarówno charakter zapalny, jak i neuropatyczny. Może pojawiać się przy ucisku na nerwy unerwiające nerw (*nervi nervorum*), uszkodzeniach nerwów po operacji, po urazach, amputacjach, przy guzach umiejscowionych w obrębie ObUN, niektórych schorzeniach kręgosłupa, i wielu innych (terapia onkologiczna – chemioterapia, radioterapia). Często nie jest następstwem pierwotnie powodującej go przyczyny, lecz zmianami, które nastąpiły w drogach przewodzenia bólu (47).

Objawy bólu neuropatycznego

Ból neuropatyczny cechuje się nagłym zespołem gwałtownych, napadowych objawów, takich jak: ból samoistny (piekący, palący, parzący, podobny do porażenia prądem elektrycznym), zaburzenia czucia o charakterze parestezji, dyzestezji, hiperalgezji, hiperpatii, allodynii oraz zaburzenia wegetatywne, które są następstwem uszkodzenia struktur układu nerwowego, m.in. bujaniem tkanki nowotworowej, terapią przeciwnowotworową (chemioterapia, radioterapia, zabiegi operacyjne) utrzymującym się kilka sekund, kilka minut lub tygodni (39). Doznania te mają charakter przerywany lub ciągły. Działanie różnego charakteru pobudzeń/bodźców (chemicznych, mechanicznych bądź termicznych) na struktury tkankowe układu nerwowego wywołują zawsze zarówno zmiany czynnościowe, jak i morfologiczne w tych strukturach, definiowane jako procesy neuroplastyczne (19).

Wzorce zachowań opisywane przez właścicieli zwierząt, mogące wskazywać na ból neuropatyczny, to np. ciągle żucie, gryzienie lub drapanie tego samego miejsca, spontaniczne skomlenie/miauczenie oraz reakcja obronna na dotyk przy braku widocznych patologii. Nadmierna wrażliwość w czasie badania zwierzęcia cierpiącego sugeruje komponentę neurologiczną bólu. W celu potwierdzenia jej bada się pacjenta pod kątem hiperalgezji i allodynii (14, 30).

Hiperalgezja ma miejsce, gdy zwierzę reaguje obronnie lub agresywnie na bodziec bólowy (np. ukłucie) w miejscu pochodzenia bólu (pierwotnie) lub okolicach (wtórnie).

Allodynia (ból wywodzący się z nieuszkodzonych tkanek nie powodowany żadnym szkodliwym bodź-

Tab. 1. Czynniki wywołujące inicjację bólu neuropatycznego

Uraz	zespół wieloobjawowego bólu miejscowego, przewlekły ból pooperacyjny
Zakażenie	neuropatia popółpaścowa, neuropatia wywołana wirusem HIV
Niedokrwienie	ośrodkowy ból poudarowy
Nowotwór	naciekanie i ucisk struktur nerwowych przez komórki rakowe
Substancja chemiczna	neuropatia po leczeniu chemioterapeutykami
Choroby metaboliczne	neuropatia cukrzycowa, neuropatia mocznikowa

cem niebólowym – allodynia dotykowa) ma miejsce w przypadku nadmiernej reakcji zwierzęcia na normalny dotyk w nieuszkodzonym miejscu, odległym od pierwotnej hiperalgezji lub nadwrażliwości.

Ból neuropatyczny wyzwała się w wyniku pierwotnego uszkodzenia lub dysfunkcji somato-sensorycznej części układu nerwowego. Trwa długo, mimo ustania działania czynnika etiologicznego. Nie cechuje go ani czynność ostrzegawcza, ani ochronna, jak to ma miejsce w przypadku bólu ostrego. Często nie jest objawem choroby, lecz procesem chorobowym samym w sobie (3). Pierwotna zmiana może być wywołana wieloma czynnikami (tab. 1). Ból neuropatyczny może trwać przez lata, a nawet dekady od zadziałania czynnika etiologicznego. Ból ten opisywany jest jako piekący, palący, wykręcający, rozrywający, miazdzący, łaskoczący, „strzelający”, wywołujący uczucie „przejścia prądu elektrycznego”, często o charakterze dyzestezji (nieprzyjemne wrażenie powstające spontanicznie lub pod wpływem działania bodźca). W jego przebiegu zachodzą tzw. procesy neuroplastyczne, czyli zmiany morfologiczne i czynnościowe w strukturach układu nerwowego (19). Neuroplastyczność czynnościowa prowadzi do zmian na poziomie molekularnym i komórkowym. Na poziomie molekularnym dochodzi do transkrypcji i/lub translacji (43), które uwidoczniają się m.in. zwiększeniem aktywności i liczby receptorów – kanałów jonowych, obniżeniem progu pobudliwości neuronów oraz ułatwionym rozprzestrzenianiem się zarówno konkretnych cząsteczek (np. endocytoza), jak też pobudzenia w komórkach neuronalnych. Na poziomie komórkowym ból neuropatyczny prowadzący do rozwoju neuroplastyczności inicjuje zjawisko ośrodkowej sensytyzacji powstałej w następstwie m.in. uwrażliwienia neuronów w rogach tylnych rdzenia, co przekłada się na obniżenie progu bólowego, zwiększoną reakcję na bodźce, zwiększoną aktywność spontaniczną neuronów w konsekwencji na obumieranie komórek rogów tylnych rdzenia kręgowego (3).

Jak zaznaczono wcześniej, cechami charakterystycznymi u pacjentów z bólem neuropatycznym jest hiperalgezja – nadmierna wrażliwość na bodźce bólowe – i allodynia – odbieranie jako bolesne bodźców, które u osobników zdrowych bólu nie powodują (np. dotyk) (39).

Procesy neuroplastyczne powodują zaburzenia czynności układu nerwowego, a w dalszej kolejności prowadzą do rozwoju objawów bólowych charakterystycznych dla bólu neuropatycznego, w tym hi-

peralgezji i allodynii, będących zaburzeniami czucia, a wynikającymi z powstawania bodźców bólowych w reakcji na stymulację zarówno nocyceptywną, jak i nienocyceptywną (43, 47).

Ból neuropatyczny towarzyszy licznym chorobom, takim jak uszkodzenie poinfekcyjne typu neuralgia półpaścowa, mono- i polineuropatia cukrzycowa (32), neuropatia uciskowa (zespół cieśni), patogenne procesy naczyniowe OUN, stwardnienie rozsiane czy choroba nowotworowa i stanowi poważny problem terapeutyczny (27). Obecnie w terapii bólu neuropatycznego stosuje się środki terapeutyczne należące do leków przeciwdepresyjnych, leków przeciwdrgawkowych, opioidowych leków przeciwbólowych, inhibitorów wchłaniania zwrotnego 5-HT, leków o działaniu miejscowym (lidokaina, kapsaicyna) i antagonistów receptora glutaminianergicznego typu NMDA (36, 37, 45). Pomimo niezaprzeczalnego postępu, jaki miał miejsce na przestrzeni ostatnich lat w leczeniu tego rodzaju bólu, obecnie dostępna terapia często jest niewystarczająca. Pacjenci cierpiący z powodu bólu neuropatycznego nierzadko wykazują oporność na działanie środków analgetycznych, zwłaszcza opioidowych leków przeciwbólowych, a dostępne dla nich substancje lecznicze cechują liczne działania niepożądane (36). Z tego powodu poszukuje się alternatywnych rozwiązań w terapii bólu neuropatycznego. Dużą nadzieję na opracowanie nowego rodzaju leku dają ligandy receptorów metabotropowych dla kwasu glutaminowego (mGluR), a w szczególności antagoniści grupy I tych receptorów (mGluR_{1i5}) (10, 11, 17).

Patomechanizmy bólu neuropatycznego

Znane są liczne poglądy na temat mechanizmów ośrodkowych i obwodowych występowania bólu neuropatycznego. W teoriach objaśniających obwodowe powstawanie bólu neuropatycznego zwraca uwagę niestałość progu pobudzenia nocyceptorów i ich duża plastyczność powodowana obwodową sensytyzacją. W rozwoju nadwrażliwości na ból pośredniczą miejscowe uwalnianie mediatorów chemicznych (nazywanych „koktajlem zapalnym”) i nagromadzenie komórek reakcji zapalnej (18, 22). Mediatorami zapalenia, które w większości są przekąźnikami bólu są: aminy biogenne (histamina, BK, 5-HT), czynnik aktywujący płytki krwi (PAF), dopełniacz, cytokiny (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-15, IL-18), produkty kwasu arachidonowego: produkty cyklooksygenazy (prostaglandyny – PGF, prostacykliny, tromboksany), hydroksykwas (np. HETE), produkty lipooksygenazy (leukotrieny, lipoksyny), NO, proteazy (kolagenaza, elastaza, tryptaza), H⁺, ATP, NGF, wolne rodniki, chemokiny, które stymulują nocyceptory bezpośrednio lub przez uwrażliwienie neuronów na kolejne bodźce (5, 13, 31). W kolejnym stadium dochodzi do migracji komórek zapalnych (makrofagów, mastocytów, fibroblastów), które produkując i uwalniając interleukinę 1-β, IL-6, czynnik martwicy guza TNF-α i czynnik

wzrostu nerwów NGF, przyczyniają się do obniżenia progu pobudliwości nerwów i tworzenia samoistnych wyładowań we włóknach A-δ oraz typu C (15, 44). Utrzymujący się stan zapalny przez aktywację przekąźników II rzędu (cAMP, IP₃, DAG, Ca²⁺) powoduje zmiany w transkrypcji genów i procesach potranslacyjnych, co prowadzi do zaburzeń w budowie i funkcji receptorów (18). Ważną rolę odgrywa tworzenie patologicznych połączeń, tzw. efaps, między aferentnymi włóknami nocyceptywnymi a współczulnymi, co wyjaśnia powstawanie bólu związanego z pobudzeniem układu współczulnego (complex regional pain syndrome – złożony wieloobjawowy miejscowy zespół bólowy) (46, 49). Podobne zjawisko „kiełkowania” (sprouting) zakończeń nerwów z głębokich warstw rogów tylnych rdzenia (blaszki Rexeda III, IV i V) do blaszki I i II opisano dla włókien A-β. W konsekwencji sygnał wejściowy informujący o bodźcach mechanicznych odbierany jest jako nocyceptywny (6). Współudział w procesie sensytyzacji obwodowej mają również kanały jonowe włókien nerwowych, do których zalicza się bramkowane napięciem kanały jonowe: Nav1.3, Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9, TRPV1. Ich nadmierna ekspresja zarówno w miejscu uszkodzenia nerwu, jak i w nieuszkodzonych zwojach rdzeniowych korzeni grzbietowych (DRG), prowadzi do ekotopowych, spontanicznych wyładowań impulsami o wysokiej częstotliwości (7). W ostatnich latach dużą wagę przywiązuje się do zmian w OUN, jako następstw rozprzestrzeniania się zmian obwodowych.

W mechanizmach ośrodkowych dochodzi do uwrażliwienia neuronów w rogach tylnych rdzenia kręgowego (RTRK), co przekłada się na obniżenie progu bólowego, zwiększoną odpowiedź na bodźce, zwiększoną aktywność spontaniczną (25), a w końcu na obumieranie komórek RTRK. Główną rolę w tych procesach odgrywa aminokwas pobudzający – kwas glutaminowy (Glu), ligand m.in. receptorów AMPA, których szybkie i powtarzalne pobudzenie powoduje powstawanie szybkich potencjałów synaptycznych i usunięcie jonów Mg²⁺ blokujących kanał jonowy związany z receptorem kwasu N-metylo-D-asparaginowego (NMDAR). Aktywacja receptorów NMDA powoduje napływ jonów Ca²⁺ do wnętrza komórek neuronów i ich zwiększoną pobudliwość. Efektem tego jest także aktywacja cyklooksygenazy i lipooksygenazy, a w jej następstwie produkcja prostaglandyn i leukotrienów prozapalnych (8, 9, 18, 29). Źródeł patologicznego bólu poszukuje się również na wyższych piętrach układu nerwowego. Pień mózgu jest ośrodkiem układu modulującego, w skład którego wchodzi zstępujące drogi hamujące i pobudzające. Drogi pobudzające, które biorą początek w istocie szarej okółowodociągowej (PAG) i brzuszno-dogłowej części rdzenia przedłużonego (RVM), są odpowiedzialne za podtrzymanie ośrodkowej sensytyzacji. Z drugiej strony, w przewlekłych stanach zapalnych zaobserwowano zmniejszoną aktywność zstępujących dróg hamujących, w których mediatora-

mi są 5-HT i epinefryna (E), co wyjaśnia skuteczność leków przeciwdepresyjnych blokujących wychwyt tych neuroprzekaźników w bólu neuropatycznym. Do tej pory jednak nie udało się przekonująco wyjaśnić, dlaczego zostaje zachwiana równowaga między tymi drogami i na niektórych zwierzęcych modelach bólu neuropatycznego dominuje aktywność dróg hamujących, a w innych aktywny jest zstępujący układ pobudzający (12, 24).

Według Wordliczka i Zajączkowskiej (43, 44) ból neuropatyczny powodując procesy neuroplastyczne, indukuje w układzie nerwowym zmiany czynnościowe na poziomie molekularnym, tj. modyfikacje procesów transkrypcji (np. zmiana ekspresji genów Kmo enzymu szlaku kinureniowego w DRG) i/lub translacji (zwiększenie aktywności i liczby receptorów/kanałów jonowych (iNMDAR, Nav1.3, Nav1.7, TRPV1), obniżenie progu pobudliwości neuronów, zmiana miejsca poszczególnych cząsteczek pronocyceptywnych (np. endocytoza) i komórkowym w postaci wyzwiania ośrodkowej sensytyzacji. Jest ona efektem patologicznego, czasowego i przestrzennego sumowania postsynaptycznego, a więc depolaryzacji większej liczby neuronów w RTRK, rozszerzenia neuronalnych pól odbiorczych, w efekcie którego bodźce podprogowe stają się nadprogowymi. Klinicznie, zmiany na poziomie komórkowym objawiają się długo trwającą hiperalgezią, która utrzymuje się nawet bez pobudzania nocyceptywnego jeszcze po wygojeniu się tkanek czy narządów. W następstwie czynnościowej neuroplastyczności dochodzi do zmian w sieci neuralnej polegających na torowaniu pobudzeń oraz wytwarzania fali wapniowej w neuronach. Zmiany w mechanizmach postsynaptycznych, w neuronach RTRK inicjują dodatnie sprzężenie zwrotne w postaci zwiększającej się nadwrażliwości neuronów, a ta dodatkowo zwiększa samonapędzające się (wind-up) zjawisko aktywacji receptorów oraz uwalnianie przekaźników pronocyceptywnych (44).

Neuroplastyczność strukturalna powoduje zmiany na poziomie synaptycznym oraz w sieci neuronalnej. Na poziomie synaptycznym dochodzi do nasilenia aktywności białka Rac1 (białko sygnałowe regulujące aktywność kinaz białkowych, przez co zwiększa gęstość synaps) i/lub osłabienia aktywności białka Homer 1a (postsynaptyczne białko zaangażowane w wiązanie receptora Glu). To ostatnio wzmiankowane białko z kolei istotnie hamuje aktywację NMDA i AMPA. Blokowanie receptorów natomiast zmniejsza uwalnianie jonów Ca^{2+} z retikulum sarkoplazmatycznego, a to hamuje aktywację kinazy MAP i wyzwala rozwój hiperalgezji (m.in. przez zmniejszenie liczby połączeń synaptycznych).

Na poziomie sieci neuronalnej neuroplastyczność strukturalna z kolei powoduje zmiany w postaci zaburzeń neurotroficznych prowadzących do rozwoju np. neuropatii lub rozrostu/pączkowania włókien nerwowych (ryc. 1), charakterystycznego dla chorych cierpią-

Ryc. 1. Schemat mechanizmu patologicznego bólu neuropatycznego (DRG – dorsal root ganglion – zwój korzenia grzbietowego rdzenia kręgowego; I, II, III etc. – numeracja blaszek rdzenia kręgowego) (oprac. wg Wordliczka i Zajączkowskiej, 2014)

cych na ból kostny wywołany przerzutami nowotworowymi do kości (43), w ich szpiku dochodzi bowiem do rozwoju bardzo intensywnego odczuwania bólu.

Ból neuropatyczny zmienia istotnie liczebność komórek nerwowych. Dochodzi do proliferacji mikrogleju i astrocytów oraz do rozpadu neuronów wtrąconych hamujących.

Następstwa bólu patologicznego

Impulsy odbierane przez nocyceptory docierają do RTRK, w którym są bramkowane przez wtrącone neurony enkefalinergiczne hamujące, po czym przechodzą do wyższych struktur OUN, ulegają drugiemu bramkowaniu (hamowanie przez endogenne systemy antynocyceptywne) na wysokości tworu siatkowatego i ostatecznie docierają do części przyśrodkowej kory przedczołowej, gdzie są odczuwane. W rozwijającym się bólu przewlekłym (patologicznym) dochodzi do wielu różnorodnych zmian w układzie nerwowym. Są to wg Wordliczka i Zajączkowskiej (43):

- internalizacja podjednostek $GluA_2$ w receptorach AMPA RTRK. Prowadzi ona do silnego przyspieszenia transportu Ca^{2+} przez kanały jonowe sprzężone z AMPAR;
- wybiórczy rozpad GABA-ergicznym neuronów wtrąconych w RTRK po częściowym uszkodzeniu nerwu, w wyniku nasilonego pobudzenia glutaminianergicznego, które z kolei prowadzi do aktywacji kaspazy i apoptozy. Następstwem powyższych zmian jest zakłócenie równowagi między zjawiskami pobudzenia i hamowania w układzie nerwowym;
- zjawisko odhamowania (desinhibicji) ułatwiające transmisję bodźców nocyceptywnych również włókna-
mi Aβ, m.in. przez pobudzenie neuronów wtrąconych pobudzających PKCγ w warstwie II RTRK. Przy

uszkodzeniach nerwów część włókien A β „pączkuje” do tych neuronów, które uległy odhamowaniu w wyniku silnej inhibicji działania hamującego GABA-ergicznego;

- nasilenie aktywności enzymów zależnych od zwiększenia stężenia Ca²⁺ (COX-2, NOS) w RTRK, co skutkuje uwalnianiem pronocyceptywnych neurotransmiterów, takich jak PGE₂ czy NO;

- obniżenie gradientu Cl⁻ w wyniku uszkodzenia nerwu. To powoduje zmniejszenie aktywności postsynaptycznego KCC2, tj. kotransportera utrzymującego gradient K⁺ – Cl⁻, co z kolei zwiększa pobudliwość neuronów postsynaptycznych. Proces ten nasila neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego BDNF (brain derivative neuronal factor) uwalniany z mikrogleju. Osłabienie aktywności kotransportera wiąże się również z patologią zespołów bólu chronicznego (urazy rdzenia, neuropatia cukrzycowa);

- nasilenie aktywacji komórek mikrogleju po uszkodzeniu nerwu przez uwolnienie ATP i chemokiny fraktalkiny. Pobudzenie receptorów *Toll-like* oraz receptorów purynerygicznych indukuje szczególnie BDNF, a ten aktywując receptory TrkB w blaszce I RTRK zwiększa pobudliwość neuronalną i reakcję bólową tak na pobudzenie nocyceptywne, jak też na nienocyceptywne (hiperalgezia, allodynia);

- aktywacja kinaz (ERK, CaMKIV) oraz cAMP wpływających na procesy transkrypcji genów uczestniczących w powstawaniu „pamięci bólowej” oraz indukowanie długotrwałych zmian we wrażliwości na ból przez obniżenie progu bólowego;

- aktywacja CREB w jądrach komórkowych neuronów przez cAMP oraz ERK, który indukuje ekspresję genów kodujących białka związane z nocycępcją (w tym COX-2 i TRPV1) oraz DREAM (inhibitora transkrypcji) hamującego ekspresję prodynorfiny w RTRK i zwiększa zjawisko nocycępcji.

W wyniku przedstawionych powyżej procesów może dochodzić do syntezy nowych cząsteczek białka na matrycy genowej RNA i syntezy nowych receptorów błonowych. Ta sytuacja zmienia aktywność neuronu na dłuższy czas, tj. na dni, a czasem nawet trwale, powodując rozwinięcie się zespołu bólu przewlekłego. Inne zmiany zachodzące po uszkodzeniu nerwu przez proces chorobowy opisuje rycina (ryc. 1) i publikowane ostatnio opracowania (43, 44).

Receptory glutaminianergiczne

Glutaminian (kwas glutaminowy – Glu) jest głównym neurotransmiterem pobudzającym w OUN, ObUN, tkankach i narządach kręgowców oraz w tkankach roślin, który działa *via* receptory jonotropowe (iGluR, do których należą receptory AMPA, NMDA i kainianowe) oraz receptory metabotropowe (mGluR). Receptory mGluR dla Glu podzielono na III grupy, w zależności od ich budowy, profilu farmakologicz-

Tab. 2. Rodzaje metabotropowych receptorów mGluR [zmodyf. wg Wierońskiej i Cieślik (42)]

Grupa	Typ	Umiejscowienie	Rodzaj białka G	Następstwa pobudzenia
I	mGluR _{1,5}	głównie postsynaptyczne	G _{q/11}	aktywacja szlaku inozytoli
II	mGluR _{2,3}	głównie postsynaptyczne	G _{i/o}	zahamowanie cAMP
III	mGluR _{4,6,7,8}	głównie presynaptyczne	G _{i/o}	zahamowanie cAMP

Ryc. 2. Schemat synapsy glutaminianergicznej z rozmieszczonymi receptorami metabotropowymi (mGluR) i jonotropowymi (iNMDAR) dla glutaminianu (Glu). NMDA, kainowy i AMPA to receptory jonotropowe, natomiast mGluR_{1,8} to receptory metabotropowe (oprac. na podst. Wierońskiej i Cieślik, 2017)

nego i sposobu przekazywania sygnału wewnątrzkomórkowego (tab. 2).

Receptory należące do grupy I (podgrupy mGluR₁ i mGluR₅) są przeważnie powiązane z białkiem G_{q/11} (20). Ich pobudzenie powoduje aktywację fosfolipazy C (PLC), a w dalszej kolejności produkcję trifosforanu inozytoli (IP₃), uwolnienie wewnątrzkomórkowych magazynów jonów Ca²⁺ i aktywację kinazy białkowej C (PKC) (33). Receptory grupy I mGluR są zlokalizowane głównie postsynaptycznie, gdzie aktywowane są przez wysokie stężenie Glu w przestrzeni synaptycznej; jednakże istnieją również prace o ich presynaptycznej lokalizacji (ryc. 2). W odróżnieniu od grupy I, receptory należące do grupy II i III mGluR są zlokalizowane głównie presynaptycznie. Ich pobudzenie powoduje obniżenie aktywności cykazy adenylanowej (cAMP), a w końcowym efekcie zmniejszenie uwalniania Glu (42).

W ostatnich latach przedstawiono liczne dowody wskazujące na istotną rolę mGluR w procesie powstawania i modulacji bólu neuropatycznego (34). Dotychczas największa liczba doświadczeń dotyczyła receptorów należących do grupy I mGluR. Badania te sugerują, iż aktywacja wymienionych wyżej podtypów receptorów powoduje aktywację mechanizmów rdzeniowych, które pośredniczą w rozwoju objawów bólu neuropatycznego. Wykazano, iż dordzeniowe podawanie szczurom DHPG, agonisty grupy I mGluR, powoduje rozwój termicznej hiperalgezji i dotykowej allodynii, charakterystycznych dla bólu neuropatycznego. Liczne elektrofizjologiczne i behawioralne dane dowodzą, iż agoniści grupy I mGluR mogą zwiększać

pobudliwość neuronów RTRK i wywołują zwiększoną wrażliwość na mechaniczne i termalne bodźce, natomiast antagoniści odwracają powyższe działania, co zostało wykazane z zastosowaniem zwierzęcych modeli bólu neuropatycznego. Doświadczenia z wykorzystaniem antagonistów mGluR₁ i mGluR₅ zostaną omówione poniżej (21, 40).

Antagoniści mGluR na modelach bólu neuropatycznego

Antagoniści mGluR₅. Rdzeniowe receptory mGluR₅ są kluczowym mediatorem neuroplastyczności leżącej u podstaw bólu przewlekłego. Wprawdzie receptory mGluR₅ mózgu znajdują się na powierzchni błon neuronalnych i w błonach wewnątrzkomórkowych, ale do dzisiaj nie określono ani obecności, ani roli fizjologicznej wewnątrzneuronalnego mGluR₅ w rdzeniu kręgowym. W rogach grzbietowych rdzenia > 80% mGluR₅ to receptory wewnątrzkomórkowe, z których ~60% znajduje się na błonach jądra komórkowego (jako receptory jądrowe), których pobudzenie prowadzi do długo utrzymującego się uwalniania Ca²⁺. Uszkodzenie nerwów indukujące nocyceptywną nadwrażliwość zwiększa ekspresję jądrowych mGluR₅ i pośredniczoną przez receptor fosforylację – ERK1/2, Arc/Arg3.1 i c-fos (41).

Blokowanie wewnątrzneuronalnych receptorów mGluR₅ w rdzeniu kręgowym hamuje neuropatyczne zachowania bólowe i cząsteczki sygnałowe bólu, podczas gdy blokowanie powierzchniowego mGluR₅ ma niewielki wpływ na obraz bólu neuropatycznego. Obniżenie stężenia wewnątrzkomórkowego Glu przez zablokowanie jego transportera EAAT-3 naśladuje działania antagonisty wewnątrzkomórkowego mGluR₅. Dane te wskazują na bezpośredni związek między wewnątrzkomórkowym GPCR a ekspresją zachowania *in vivo* (41).

SIB-1757. SIB-1757 został najwcześniej otrzymanym, selektywnym, niekompetycyjnym antagonistą mGluR₅ należącym do tzw. negatywnych modulatorów allosterycznych (NAMs, Negative Allosteric Modulators). NAM'y nie blokują ortosterycznego miejsca wiązania dla endogennego ligandu (w tym przypadku Glu), lecz przylaczają się do allosterycznego miejsca wiązania w obrębie domeny śródbłonowej receptora, hamując jego aktywność. Działanie SIB-1757 sprawdzono na modelu podwiązania nerwów rdzeniowych szczura (SNL, Spinal Nerve Ligation), który jest jednym z modeli bólu neuropatycznego. We wspomnianym doświadczeniu SIB-1757 częściowo znosił dotykową allodynię po wstrzyknięciu dokanałowym, natomiast okazał się nieskuteczny po aplikowaniu doukładowym. Ponadto całkowicie znosił termiczną hiperalgezę po iniekcji dordzeniowej lub miejscowej w uszkodzoną łapę, jednocześnie nie wykazując działania antynocyceptywnego. Wyniki powyższego doświadczenia sugerują istotną rolę re-

ceptorów mGlu₅ w modulacji termicznej hiperalgezji (2, 10).

MPEP. Po SIB-1757, jako kolejny został opracowany MPEP (2-metylo-6-(fenylo-etynylo)pirydyna), bardzo silny, selektywny, niekompetycyjny antagonist receptora mGlu₅, również należący do negatywnych modulatorów allosterycznych. Jego działanie określano w licznych doświadczeniach na modelach bólu neuropatycznego. W modelu podwiązania nerwów rdzeniowych (SNL) u szczura, wprowadzany dosystemowo MPEP częściowo zniósł mechaniczną allodynię, jednakże jego działaniu towarzyszyły skutki niepożądane, m.in. hamowanie aktywności lokomotorycznej. W modelu luźnego podwiązania nerwu kulszowego (CCI, Chronic Constriction Injury), MPEP po aplikowaniu dokanałowym osłabiał nocycepcję wywołaną formaliną oraz zmniejszał stężenie Glu w rdzeniu kręgowym. Substancja ta wykazała skuteczność na wielu innych modelach bólu neuropatycznego, jednak jej zastosowanie ograniczone jest przez wąskie okno terapeutyczne (2, 16).

MTEP. MTEP (3-((2-metylo-1,3-thiazolo-4-yl)etynylo)pirydyna) jest pochodną MPEP o większej niż jego poprzednik sile wiązania i selektywności w stosunku do mGluR₅. MTEP, podobnie jak MPEP, po aplikowaniu doukładowym ograniczał rozwój mechanicznej allodynii w modelu podwiązania nerwów rdzeniowych (SNL) u szczura. Skuteczność MTEP również ograniczają działania niepożądane, których stwierdzenie zmniejszyło zainteresowanie tym związkiem (16, 48).

Fenobam. Fenobam ([N-(3-chlorofenylo)-N9-(4,5-di-hydro-1-metylo-4-oksy-1H-imidazolo-2-yl) mocznik]) opracowany został w latach 70. jako niebenzodiazepinowy środek anksjolityczny. Później poznano jego zdolność do silnego, wybiórczego, ale niekompetycyjnego blokowania receptorów mGluR₅ z odwrotną aktywnością agonistyczną (35). Fenobam wykazał skuteczność w badaniu warunkowanej analgezji preferencji miejsca u myszy poddanych częściowemu uszkodzeniu nerwu kulszowego (SNI, Spared Nerve Injury), co wskazuje na jego skuteczność w znoszeniu bólu neuropatycznego (23). Dalsze badania nad tym związkiem zostały zaniechane ze względu na efekty psychostymulujące obecne po zastosowaniu fenobamu w wyższych dawkach (41). Cytowani autorzy wykazali, że blokowanie wewnątrzkomórkowego (jądrowego) mGluR₅ stanowi nową strategię rozwoju skutecznych terapii dla bólu przewlekłego.

Antagoniści mGluR₁

LY456236. LY456236 jest selektywnym, niekompetycyjnym antagonistą receptora mGluR₁. Jego działanie zostało określone na modelu podwiązania nerwów rdzeniowych (SNL) u szczura. W doświadczeniu tym LY456236 wykazał większą skuteczność od MPEP i MTEP, osłabiając hiperalgezę i całkowicie

znosząc mechaniczną allodynię. Wyniki te sugerują, iż antagoniści receptorów mGluR₁ mogą okazać się bardziej skuteczni w terapii bólu neuropatycznego od antagonistów receptorów mGluR₅ (40).

Doukładowe stosowanie MPEP, MTEP i LY456236 zmniejszało przeculicę bólową wywołaną formaliną i mechaniczną allodynią po SNL. Jednak tylko LY456236 całkowicie znosił allodynię. Na modelach lękowych MPEP (3-30 mg·kg⁻¹), MTEP (3-10 mg·kg⁻¹) i LY456236 (10-30 mg·kg⁻¹ m.c.) wykazywały działanie przeciwlękowe podobne do benzodiazepiny (BDA), chlordiazepoksydu (CDP; 6 mg·kg⁻¹). Jednak tylko MPEP i MTEP były w stanie wywołać działania anksjolityczne porównywalne z CDP. W serii testów sprawdzających potencjalne skutki niepożądane, MPEP i MTEP zmniejszały temperaturę ciała i aktywność ruchową oraz upośledzały reakcję na pokarm i wydolność fizyczną w teście rota rod po stosowaniu w dawkach 3-30 i 1-30 mg·kg⁻¹, odpowiednio (40).

A-841720. A-841720 jest kolejnym niekompetycyjnym, selektywnym antagonistą receptora mGluR₁. Został sprawdzony na modelu bólu neuropatycznego podwiązania nerwów rdzeniowych na wysokości L-5, L-6 (SNL) oraz podwiązania nerwów kulszowych szczura. W pierwszym doświadczeniu wstrzyknięcie dootrzewnowe A-841720 powodowało całkowite zniesienie mechanicznej allodynii, natomiast na drugim modelu związek ten spowodował zależne od dawki zmniejszenie mechanicznej allodynii; w 78 ± 10% po pierwszym dniu, a o 65 ± 6% po 5 dniach stosowania antagonisty. Pomimo obiecujących wyników badań przedklinicznych, zainteresowanie tym związkiem osłabło w związku z jego działaniami niepożądanymi, jakie wykazał A-841720, obejmującymi upośledzenie funkcji motorycznych i poznawczych zwierząt (11).

Bóle neuropatyczne wymagają stosowania kilku klas leków i procedur, ponieważ nie da się opanować tego bólu za pomocą jednej metody farmakologicznej lub niefarmakologicznej. Przed, w trakcie i po każdym zabiegu chirurgicznym stosuje się różne leki przeciwbólowe i metody terapeutyczne, które mogą zredukować aferentne pobudzenie nocyceptorów. Wiele z nich kontynuuje się po zabiegu w celu zmniejszenia czucia zarówno z ObUN, jak i z OUN.

Obiecujące wyniki licznych doświadczeń z wykorzystaniem antagonistów receptorów mGlu₁ i mGlu₅ na modelach bólu neuropatycznego dają nadzieję na opracowanie nowego rodzaju leku skutecznego w terapii neuropatii. Niestety, dotychczas poznane związki będące antagonistami receptorów mGlu są obarczone poważnymi działaniami niepożądanymi, co udaremnia ich wykorzystanie w kolejnych fazach badań klinicznych. Wskazane jest dalsze poszukiwanie niekompetycyjnych antagonistów grupy I mGluR zarówno o odpowiednio silnym powinowactwie do receptorów, jak i szerokim oknie terapeutycznym.

Piśmiennictwo

1. Baron R.: Mechanisms of disease: neuropathic pain – a clinical perspective. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 2006, 2, 95-106.
2. Battaglia A. A.: An introduction to pain and its relation to nervous system disorders. 1st ed. John Wiley&Sons, Ltd. 2016.
3. Bet A.: Powtarzalność zjawiska sumowania czasowego w modelu bólu neuropatycznego u zdrowych ochotników. *AM Poznań* 2012, s. 7-10.
4. Bączek E., Łuczak J., Kotlińska-Lemieszek A.: Patomechanizm i leczenie bólu neuropatycznego. *Nowa Medycyna – Ból i Opieka Paliatywna* 1999, 1, 8.
5. Cheng H. Y., Pitcher G. M., Laviolette S. R.: DREAM is a critical transcriptional repressor for pain modulation. *Cell* 2002, 108, 31-43.
6. Chien S. Q., Li C., Li H., Xie W., Pablo C. S., Zhang J. M.: Sympathetic fiber sprouting in chronically compressed dorsal root ganglia without peripheral axotomy. *J. Neuropathic Pain Symptom Palliation* 2005, 1, 19-23.
7. Chung K., Lee B. H., Yoon Y. W., Chung J. M.: Sympathetic sprouting in the dorsal root ganglia of the injured peripheral nerve in a rat neuropathic pain model. *J. Comp. Neurol.* 1996, 376, 241-251.
8. Coull J. A., Beggs S., Boudreau D.: BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature* 2005, 438, 1017-1021.
9. Dib-Hajj S. D., Binshtok A. M., Cummins T. R., Jarvis M. F., Samad T., Zimmermann K.: Voltage-gated sodium channels in pain states: role in pathophysiology and targets for treatment. *Brain Res. Rev.* 2009, 60, 65-83.
10. Dogrul A., Ossipov M. H., Josephine Laib J., Malan Jr. T. P., Porreca F.: Peripheral and spinal antihyperalgesic activity of SIB-1757, a metabotropic glutamate receptor (mGluR5) antagonist, in experimental neuropathic pain in rats. *Neurosci. Lett.* 2000, 292, 115-118.
11. El-Kouhen S. G., Lehto J. B., Pan R., Chang S. J., Baker C., Zhong P. R., Hollingsworth J. P., Mikusa E. A., Cronin K. L., Chu S. P., McGaraughy M. E., Uchic L. N., Miller N. M., Rodell M., Patel P., Bhatia M., Mezler T., Kolasa G. Z., Zheng G. B., Fox A. O., Stewart M. W., Decker R. B., Moreland J. D., Brioni P., Honore P.: Blockade of mGluR1 receptor results in analgesia and disruption of motor and cognitive performances: effects of A-841720, a novel non-competitive mGluR1 receptor antagonist. *Brit. J. Pharmacol.* 2006, 149, 761-774.
12. Gao Y. J., Ji R. R.: Chemokines, neuronal-glial interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol. Ther.* 2010, 126, 56-68.
13. Garry E. M., Moss A., Rosie R., Delaney A., Mitchell R., Fleetwood-Walker S. M.: Specific involvement in neuropathic pain of AMPA receptors and adapter proteins for the GluR2 subunit. *Mol. Cell. Neurosci.* 2003, 24, 10-22.
14. Harden R. N.: Chronic neuropathic pain. Mechanisms, diagnosis, and treatment. *Neurologist* 2005, 11, 11-22.
15. Harriott B. S., Gold M. S.: Contribution of primary afferent channels to neuropathic pain. *Curr. Pain Headache Rep.* 2009, 13, 197-207.
16. Hudson L. J., Bevan S., McNair K., Gentry C., Fox A., Kuhn R., Winter J.: Metabotropic glutamate receptor 5 upregulation in A-fibers after spinal nerve injury: 2-Methyl-6-(Phenylethynyl)-Pyridine (MPEP) reverses the induced thermal hyperalgesia. *J. Neurosci.* 2002, 22, 2660-2668.
17. Jaeschke G., Wettstein J. G., Nordquist R. E., Spooren W.: mGlu5 receptor antagonists and their therapeutic potential. *Expert Opin. Ther. Patents* 2008, 18, 123-142.
18. Jolival C. G., Lee C. A., Ramos K. M., Calcutt N. A.: Allodynia and hyperalgesia in diabetic rats are mediated by GABA and depletion of spinal potassium-chloride co-transporters. *Pain* 2008, 140, 48-57.
19. Kania B. F., Wrońska D.: Introduction to neuroplasticity. *JBBS* 2017, 7, 42-49.
20. Kania B. F., Wrońska D.: Metabotropic glutamate receptors. Classification, structure and role in diseases, [w:] O'Keefe J. (ed.): *Metabotropic Glutamate Receptors*. NOVA, USA 2018, ss. 1-79.
21. Kozela E., Pilc A., Popik P.: Inhibitory effects of MPEP, an mGluR5 antagonist, and memantine, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, on morphine antinociceptive tolerance in mice. *Psychopharmacol.* 2003, 165, 245-251.
22. Kuner R.: Central mechanisms of pathological pain. *Review Nature Medicine* 2010, 16, 1258-1266.
23. Lax N. C., George D. C., Ignatz C., Benedict J., Kolber B. J.: The mGluR5 antagonist fenobam induces analgesic conditioned place preference in mice with spared nerve injury. *PLoS One* 2014, 9 (7): e103524.
24. Leung L., Cahill C. M.: TNF-α and neuropathic pain – a review. *J. Neuroinflammation* 2010, 7, 1-11.
25. Lu Y., Zheng J., Xiong L., Zimmermann M., Yang J.: Spinal cord injury-induced attenuation of GABAergic inhibition in spinal dorsal horn circuits is associated with down-regulation of the chloride transporter KCC2 in rat. *J. Physiol. (Lond.)* 2008, 586, 5701-5715.
26. Mathews K. A.: Neuropathic pain. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2008, 38, 1365-1414.

27. Mathews K., Kronen P. W., Lascelles D., Nolan A., Robertson S., Steagall P. V., Wright B., Yamashita K.: Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *J. Small Anim. Pract.* 2014, 5, E10-E68.
28. Merskey H., Bogduk N. (eds): Classification of chronic pain. Task Force on Taxonomy. Part III: Pain Terms. A Current List with Definitions and Notes on Usage. 2nd ed. IASP Press, Seattle 1994, 209-214.
29. Milligan E. D., Watkins L. R.: Pathological and protective roles of glia in chronic pain. *Nature Rev. Neurosci.* 2009, 10, 23-36.
30. Muir W. W. III, Wiese A. J., Wittum T. E.: Prevalence and characteristics of pain in dogs and cats examined as out patients at a veterinary teaching hospital. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2004, 224, 1459-1463.
31. Nicotra L., Loram L. C., Watkins L. R., Hutchinson M. R.: Toll-like receptors in chronic pain. *Exp. Neurol.* 2012, 234, 316-329.
32. Niessen S. J., Powney S., Guitian J.: Evaluation of a quality-of-life tool for cats with diabetes mellitus. *J. Vet. Intern. Med.* 2010, 24, 1098-1105.
33. Niswender C. M., Conn J. P.: Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2010, 50, 295-322.
34. Osikowicz M., Mika J., Przewlocka B.: The glutamatergic system as a target for neuropathic pain relief. *Exp. Physiol.* 2013, 98, 372-384.
35. Porter R. H. P., Jaeschke G., Spooren W., Ballard T. M., Büttelmann B., Kolczewski S., Peters J. U., Prinssen E., Wichmann J., Vieira E., Mühlemann A., Gatti S., Mutel V., Malherbe P.: Fenobam: A clinically validated non-benzodiazepine anxiolytic is a potent, selective and non-competitive mGlu5 receptor antagonist with incense agonist activity. *JPET Fast Forward*. Publ July 22, 2005 as DOI: 10.1124/jpet.105.089839.
36. Szczudlik A., Dobrogowski J., Wordliczek J., Stępień A., Krajnik M., Leppert W., Woron J., Przeklasa-Muszyńska A., Kocot-Kępska M., Zajczkowska R., Janecki M., Adamczyk A., Malec-Milewska M.: Rozpoznanie i leczenie bólu neuropatycznego: przegląd piśmiennictwa i zalecenia Polskiego Towarzystwa Badań Bólu i Towarzystwa Neurologicznego – cz. I. *Ból* 2014, 15, 8-18.
37. Szczudlik A., Dobrogowski J., Wordliczek J., Stępień A., Krajnik M., Leppert W., Woron J., Przeklasa-Muszyńska A., Kocot-Kępska M., Zajczkowska R., Janecki M., Adamczyk A., Malec-Milewska M.: Rozpoznanie i leczenie bólu neuropatycznego: przegląd piśmiennictwa i zalecenia Polskiego Towarzystwa Badań Bólu i Towarzystwa Neurologicznego – cz. II. *Ból* 2014, 15, 8-21.
38. Toyota M., Spencer D., Sawai-Toyota S., Jiaqi W., Zhang T., Koo A. J., Howe G. A., Gilroy S.: Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling. *Science* 2018, 361, 1112-1115.
39. Treede R. D., Jensen T. S., Campbell J. N.: Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology* 2008, 70, 1630-1635.
40. Varty G. B., Grilli M., Forlani A., Fredduzzi S., Grzelak M. E., Guthrie D. H., Hodgson R. A., Lu S. X., Nicolussi E., Pond A. J., Parker E. M., Hunter J. C., Higgins G. A., Reggiani A., Bertorelli R.: The antinociceptive and anxiolytic-like effects of the metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) antagonists, MPEP and MTEP, and the mGluR1 antagonist, LY456236, in rodents: a comparison of efficacy and side-effect profiles. *Psychopharmacol.* 2005, 179, 207-217.
41. Vincent K., Corneal V. M., Jong Y.-J. I., Laferriere A., Kumar N., Mickeviciute A., Fung J. S. T., Bandegi P., Ribeiro-da-Silva A., O'Malley K. L., Coderre T. J.: Intracellular mGluR5 plays a critical role in neuropathic pain. *Nature Commun.* 2016, 7, 10604, <https://doi.org/10.1038/ncomms10604>
42. Wierońska J. M., Cieślak P.: Glutaminian i jego receptory, czyli o tym, jak można uleczyć mózg. *Wszechświat* 2017, 118, 178-189.
43. Wordliczek J., Zajczkowska R.: Ból neuropatyczny – patomechanizm. *Medycyna Paliatywna w Praktyce* 2014, 8, 61-65.
44. Wordliczek J., Zajczkowska R.: Mechanisms in cancer pain, [w:] Hanna M., Zyllicz B. (red.): *Cancer pain*. Springer, London Heidelberg New York 2013, s. 47-70.
45. Wordliczek J., Zajczkowska R., Dobrogowski J.: Farmakologiczne leczenie bólu neuropatycznego. *Polski Przegląd Neurol.* 2011, 7, 39-48.
46. Xua Q., Yaksh T. L.: A brief comparison of the pathophysiology of inflammatory versus neuropathic pain. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* 2011, 24, 400-407.
47. Zhou Q., Wang J., Zhang X., Zeng L., Wang L., Jiang W.: Effect of metabotropic glutamate 5 receptor antagonists on morphine efficacy and tolerance in rats with neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 2013, 71, 17-23.
48. Zhuo M., Wu G., Wu L. J.: Neuronal and microglial mechanisms of neuropathic pain. *Mol. Brain* 2011, 4, 31-34.
49. Zimmermann M.: Pathobiology of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 2001, 19, 23-37.

Adres autora: prof. dr hab. Bogdan Feliks Kania, Instytut Weterynarii, Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej UJ-UR, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollataja w Krakowie, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków