

Warszawa, dn. 3.06.2022 r.

Streszczenie pracy doktorskiej zatytułowanej

„Wpływ jonów magnezu na analgezję indukowaną morfiną – próba określenia mechanizmu działania”

Efektywne łagodzenie bólu wciąż stanowi problem kliniczny. Do najsilniej działających analgetyków należą opioidy. Niestety rozwój tolerancji na działanie analgetyczne, ryzyko wystąpienia zależności, jak również niewielka skuteczność związków opioidowych w łagodzeniu bólu z komponentem neuropatycznym znacznie ograniczają użyteczność terapeutyczną tej grupy leków.

W praktyce klinicznej podejmuje się próby stosowania opioidów w terapii skojarzonej razem z tzw. koanalgetykami. Najczęściej jako leki uzupełniające używane są środki przeciwdepresyjne, przeciwdrgawkowe, jak również syntetyczni antagoniści receptora N-metylo-D-asparaginowego (NMDA). Niestety te związki także mogą powodować poważne skutki uboczne, co ogranicza szerokie praktyczne zastosowanie wskazanych połączeń, jednak może wyznaczać kierunek opracowania nowych sposobów terapii. Szczególnie obiecującą alternatywą wydaje się być połączenie fizjologicznych blokerów kanału receptora NMDA, czyli jonów magnezu z opioidowymi lekami przeciwbólowymi.

W niniejszej pracy zbadano aktywność antynocyceptywną łącznego podania magnezu z morfiną w modelu receptorowego bólu ostrego oraz w modelu bolesnej neuropatii cukrzycowej indukowanej streptozotocyną (STZ). W kolejnym etapie podjęto próbę określenia molekularnego mechanizmu interakcji pomiędzy magnezem a morfiną. Dane dostępne w piśmiennictwie wskazują, że receptory NMDA mogą sąsiadować na błonach komórkowych tych samych neuronów z receptorami μ opioidowymi (MOP) w strukturach ośrodkowego układu nerwowego, w tym w istocie szarej okołowodociągowej (PAG). Co więcej, w stanie spoczynku C-koniec receptora MOP jest połączony z regionem C1 C-końca podjednostki NR1 receptora NMDA. Morfina prowadzi do aktywacji kinazy białkowej C

(PKC), która fosforyluje reszty serynowe (w tym Ser⁸⁹⁶) znajdujące się na C-końcu podjednostki NR1, natomiast aktywowanie receptora NMDA (np. poprzez rozwój bólu neuropatycznego) rekrutuje kinazę PKA, która fosforyluje reszty aminokwasowe (w tym Ser³⁷⁵) na C-końcu receptora MOP. W konsekwencji dochodzi do rozpadu kompleksu receptorów MOP-NMDA, co może odpowiadać za spadek efektywności analgetycznej opioidu. W związku z powyższym w badaniach własnych z zastosowaniem techniki Western blot oceniano zmiany poziomu fosforylacji receptora MOP w pozycji Ser³⁷⁵ oraz podjednostki NR1 receptora NMDA w miejscu Ser⁸⁹⁶ w homogenatach regionu PAG wyizolowanego z mózgu szczura. Zmiany te analizowano w aspekcie wpływu morfiny, magnezu oraz ich kombinacji u zwierząt z rozwiniętą bolesną neuropatią cukrzycową. Ponadto, przy użyciu standardowych testów immunoenzymatycznych poddano ocenie aktywność kinaz PKA i PKC.

W szeregu eksperymentów własnych zaobserwowano, iż morfina podana jednorazowo drogą ośrodkową (dokanałowo i.t. oraz dokomorowo i.c.v.), jak również obwodową (doortrzewnowo i.p.) wykazywała dawkozależny efekt antynocyceptywny w modelu receptorowego bólu ostrego przy zastosowaniu bodźca termicznego (test tail-flick), jak i bodźca mechanicznego (test Randall-Selitto). Jednorazowe podanie jonów magnezu nie modyfikowało progów czucia bodźców nocyceptywnych. Jednakże premedykacja magnezu w sposób istotny statystycznie nasilała antynocyceptywne działanie morfiny aplikowanej ośrodkowo i obwodowo.

W modelu z utrwaloną neuropatią cukrzycową jednokrotne, jak i subchroniczne podawanie morfiny (i.p.) nie modyfikowało hiperalgezji indukowanej STZ. Magnez aplikowany (i.p.) przez 7 kolejnych dni powodował wzrost progów czucia mechanicznego bodźca nocyceptywnego. Co ważne, łączne podawanie magnezu z morfiną nie tylko łagodziło, ale nawet znosiło mechaniczną hiperalgezę.

Badania własne wykazały istotne zwiększenie poziomu fosforylacji zarówno Ser⁸⁹⁶ podjednostki NR1, jak i Ser³⁷⁵ receptora MOP u szczurów z rozwiniętą cukrzycą w odniesieniu do zdrowych zwierząt, co wskazuje na aktywację receptora NMDA, ale dezaktywację receptora opioidowego w stanie bólu neuropatycznego. Morfina nie spowodowała zmian w ilości białka ufosforylowanego obu badanych receptorów, natomiast aplikowanie jonów magnezu skutkowało istotnym statystycznie obniżeniem stopnia

fosforylacji receptorów MOP i NMDA w porównaniu do grupy nieleczonych cukrzyków. Ponadto magnez istotnie zmniejszał aktywność zarówno kinazy PKA, jak i kinazy PKC.

Podsumowując, magnez nasila działanie morfiny w receptorowym bólu ostrym, jednak efekt antynocyceptywny jest szczególnie silnie zaznaczony w opornym na działanie opioidów bólu neuropatycznym. Mechanizm tej interakcji wydaje się być związany z obniżeniem przez magnez fosforylacji pronocyceptywnych receptorów NMDA i w konsekwencji hamowaniem ich aktywności, jak i pośrednim obniżeniem fosforylacji receptorów MOP, co z kolei odblokowuje ich aktywność. Końcowym efektem działania jonów magnezu jest prawdopodobne przywrócenie zerwanego połączenia kompleksu receptorów MOP-NMDA, mającego kluczowe znaczenie dla działania analgetycznego morfiny.