



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ
ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ»
ΕΠΙΣΤ. ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ: Δ. ΔΑΜΙΓΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Η σημασία της β-ενδορφίνης στο μετεγχειρητικό πόνο και ο ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος στην αναλγητική της δράση

Σπουδαστής:

Ρουστάνης Ευάγγελος, Ιατρός (Α.Μ. 113)

Επιβλέπων καθηγητής:

Ευαγγέλου Άγγελος, Ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Τριμελής Επιτροπή Αξιολόγησης:

Δαμίγος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Ψυχολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ευαγγέλου Άγγελος, Ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Καλφακάκου Βασιλική, Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Ιωάννινα, 2015

Επιβλέπων Καθηγητής

Άγγελος Ευαγγέλου
Καθηγητής Φυσιολογίας

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο μετεγχειρητικός πόνος ανέκαθεν μου προκαλούσε δέος. Η παρατήρηση ότι άνθρωποι της ίδιας ηλικίας και κοινωνικο-οικονομικής κατάστασης, που είχαν υποβληθεί στην ίδια επέμβαση από τον ίδιο χειρουργό βίωναν διαφορετικά -και σε ορισμένες περιπτώσεις ακραία- επίπεδα πόνου προκαλούσε εκ μέρους μου έντονο προβληματισμό και κάποιες φορές αγανάκτηση για τους ασθενείς που φρόντιζα. Οι λόγοι για να ασχοληθώ επισταμένα με το κεφάλαιο του μετεγχειρητικού άλγους ήταν αρκετοί και επιτακτικοί:

1) Ο πόνος είναι σχεδόν μόνιμο γνώρισμα των ασθενών μιας χειρουργικής κλινικής και ιδιαίτερα αυτών που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση. Ελάχιστες ιατρικές ειδικότητες έρχονται αντιμέτωπες τόσο συχνά και τόσο στενά με το άλγος, όσο η ειδικότητα της γενικής χειρουργικής και ελάχιστοι γιατροί καλούνται να υιοθετήσουν θεραπευτικές πρακτικές αντιμετώπισής του στην καθημέρα κλινική πράξη, όσο οι γενικοί χειρουργοί.

2) Παρά τη συχνότητα εμφάνισής του -και πολλές φορές με επιτακτικό τρόπο- είναι χαρακτηριστική η έλλειψη evidence based εκπαίδευσης και γενικότερης παιδείας πάνω στην αντιμετώπιση του άλγους, από τους επαγγελματίες υγείας τέτοιων κλινικών. Η αντίληψη “αφού χειρουργήθηκε θα πονάει” επικρατεί ακόμα, σε μεγάλη μερίδα ιατρικού και νοσηλευτικού προσωπικού. Είναι σχεδόν απογοητευτική η αντίδραση που λαμβάνει κανείς όταν ζητά τη συγχορήγηση δύο ή και τριών αναλγητικών φαρμάκων σε έναν ασθενή με εμμένον και σφοδρό άλγος, από συναδέλφους που δεν έχουν κανένα πρόβλημα να χορηγήσουν τρεις, τέσσερις ή περισσότερες αντιβιώσεις στον ίδιο ασθενή.

3) Ο πόνος συνιστά μια από τις ειδοποιούς διαφορές στη μετεγχειρητική πορεία των ασθενών, ενώ μπορεί να καθορίσει, ανάλογα με την αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπισή του, το φόρτο εργασίας μιας ήδη επιβαρυνμένης χειρουργικής κλινικής. Ο ασθενής ενδεχομένως δε θα δώσει σημασία στις ημέρες νοσηλείας του, στις ξενοδοχειακές υποδομές της κλινικής, στον κώδικα ενδυμασίας των επαγγελματιών υγείας ή ακόμα και στη συμπεριφορά τους, όταν αυτή είναι στιγμιαία και παρορμητική και όχι εκ συστήματος. Θα εκτιμήσει όμως αφάνταστα έναν γιατρό, μια κλινική και ένα σύστημα υγείας που κατάφεραν σε μια στιγμή ανείπωτου πόνου να τον ανακουφίσουν με τα κατάλληλα φάρμακα.

Το ερώτημα της διαφορετικής αντίδρασης στο βλαπτικό ερέθισμα με οδήγησε

αναπόφευκτα στη μελέτη πάνω στη β-ενδορφίνη, από καιρό γνωστή ως μέρος του ενδογενούς συστήματος αναλγησίας και στο πώς αυτή δρα σε περιβάλλον φλεγμονής. Οι προεκτάσεις της δράσης της στο μετεγχειρητικό ασθενή προφανείς, αφού το χειρουργικό πεδίο συνιστά εξ ορισμού πεδίο άσηπτης φλεγμονής. Θα μπορούσε μήπως τα διαφορετικά επίπεδα πόνου που βιώνουν οι ασθενείς μας να οφείλονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις β-ενδορφίνης στο αίμα τους; Υπάρχουν μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία που να στηρίζουν αυτή την υπόθεση; Θα μπορούσαν τα λευκά αιμοσφαίρια που συσσωρεύονται στην περιοχή της φλεγμονής και παράγουν ενδογενή οπιοειδή -πρόσφατη ανακάλυψη των επιστημόνων που ασχολούνται με τον πόνο- να αποτελέσουν στόχο της επόμενης γενιάς αναλγητικών φαρμάκων;

Στον άνθρωπο που με στήριξε με αυτοθυσία,
Στη Λία μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή	7
Δομές και ιδιότητες συστήματος αλγαισθησίας	9
Ενεργοποιώντας τον αλγοϋποδοχέα: Θερμικά ερεθίσματα και ο ρόλος του TRPV1	12
Τα μηχανο-ευαίσθητα κανάλια K^+ TRAAK και TREK-1 στην αλγαισθησία από θερμά ερεθίσματα	16
TRPM2, TRPM4 και TRPM5	17
Ενεργοποιώντας τον αλγοϋποδοχέα: Ψυχρά ερεθίσματα και ο ρόλος των TRPM8 και TRPA1 καναλιών	18
Ο ρόλος των Na_v 1.8 καναλιών στην αγωγή του ψύχους	22
Ενεργοποιώντας τον αλγοϋποδοχέα: Μηχανικά ερεθίσματα	23
Υποψήφιοι μεταγωγείς (transducers) μηχανικών ερεθισμάτων: Οικογένεια TRP καναλιών	26
Υποψήφιοι μετατροπείς μηχανικών ερεθισμάτων: κανάλια KCNK	26
Ενεργοποιώντας τον αλγοϋποδοχέα: Χημικά ερεθίσματα	27
Χημικό περιβάλλον της φλεγμονής	29
Στόχοι της “φλεγμονώδους σούπας”-TRPV1	31
Στόχοι της “φλεγμονώδους σούπας”-TRPA1	32

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Εισαγωγή	34
Μέθοδος	36
Το σύστημα των ενδογενών οπιοειδών	37
Η β-ενδορφίνη και το ενδογενές σύστημα αναλγησίας	38
Υποδοχείς οπιοειδών και περιφερικοί μηχανισμοί αναλγησίας σε συνθήκες φλεγμονής	42
Πόνος και ανοσοποιητικό σύστημα	44
Η σημασία της β-ενδορφίνης στο μετεγχειρητικό πόνο	54
Συμπεράσματα	58
Βιβλιογραφία	61

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ : ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΛΓΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όταν ερεθίσματα απειλούν την ομοιόσταση των ιστών, είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω διαταραχής αγγείωσής τους, ο οργανισμός αντιδρά με ένα σύνολο εκδηλώσεων από το αυτόνομο νευρικό και το ενδοκρινές σύστημα (μεταβολές στην αρτηριακή πίεση και καρδιακή συχνότητα, έκκριση κορτιζόλης από τα επινεφρίδια κα). Δημιουργείται επίσης η αίσθηση του πόνου, που αναγκάζει τον οργανισμό να αντιδρά προς την κατεύθυνση της απομάκρυνσής του από το ερέθισμα για τη διατήρηση της ομοιόστασης. Αυτές οι αντιδράσεις του σώματός μας στο βλαπτικό ερέθισμα είναι στερεότυπες και σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες από τη φύση και προέλευση του ερεθίσματος.

Ο πόνος, ως τελικό προϊόν επεξεργασίας του βλαπτικού ερεθίσματος, είναι σύνθετη και πολυδιάστατη εμπειρία, μοναδική για κάθε άτομο. Η τελική έκφρασή του περιλαμβάνει συμπεριφοριολογικές, φυσιολογικές και ψυχολογικές-γνωσιακές αντιδράσεις στο βλαπτικό ερέθισμα, που επηρεάζονται από προηγούμενες εμπειρίες και βιώματα. Η δυσκολία ποσοτικοποίησης και ενσωμάτωσης των διαφόρων παραμέτρων που παίρνουν μέρος στην έκφραση του πόνου είναι αυτή που καθιστά προς το παρόν ανέφικτη τη δημιουργία αντικειμενικής μεθόδου μέτρησής του.

Η διαφορά που υφίσταται ανάμεσα στον “πόνο” και την “αλγαισθησία” είναι θεμελιώδης. Η αλγαισθησία αναφέρεται στο μηχανισμό νευρώνων, υποδοχέων και χημικών μορίων με τα οποία το βλαπτικό ερέθισμα γίνεται αντιληπτό. Η λειτουργία του μηχανισμού αυτού δεν προϋποθέτει “συνειδητοποίησή” του ερεθίσματος και δεν υπόκειται στον έλεγχό μας, η σύνθεση δε των διαφόρων στοιχείων που συναποτελούν το μηχανισμό της αλγαισθησίας, καθώς και η ένταση των ηλεκτροχημικών μεταβολών που λαμβάνουν χώρα με την ιστική βλάβη, είναι κωδικοποιημένα στο γενετικό υλικό του καθενός από εμάς, εξασφαλίζοντας κατ'αρχάς τεράστια λειτουργική ανομοιογένεια.

Όμως η ερμηνεία της ιστικής βλάβης σε πόνο διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο εξαιτίας και επίκτητων παραγόντων. Ανάλογα βιώματα του παρελθόντος επηρεάζουν καθοριστικά τον τρόπο με τον οποίο ο εγκέφαλός μας ενσωματώνει και αντιδρά στην πληροφορία του βλαπτικού ερεθίσματος. Εξάλλου, έκθεση του νευρικού συστήματος σε επαναλαμβανόμενα αλγογόνα ερεθίσματα οδηγεί σε ανατομικές τροποποιήσεις του, δημιουργία νέων, ανατροφοδοτικών νευρωνικών κυκλωμάτων που μειώνουν την ουδό ενεργοποίησής του σε κάθε επόμενο ερέθισμα (υπό αυτό το πρίσμα, η απαίτηση από έναν

ασθενή να αντέξει, επειδή “τα έχει ξαναπεράσει αυτά” είναι επιστημονικά αστήρικτη, αφού άνθρωπος που έχει πονέσει πολύ και κατ'επανάληψη στο παρελθόν, αναμένεται να πονέσει περισσότερο και πιο εύκολα τώρα).

Η παρούσα εργασία χωρίζεται σε δύο τμήματα. Στο πρώτο γίνεται αδρή αναφορά στους περιφερικούς μηχανισμούς αλγαισθησίας και στους κυριότερους υποδοχείς που παίρνουν μέρος σε αυτούς τους μηχανισμούς, καθώς και στα κυριότερα χημικά μόρια που αποτελούν τη λεγόμενη “φλεγμονώδη σούπα”, από την οποία προέρχεται το αλγογόνο ηλεκτρικό ερέθισμα. Επιχειρείται έτσι η σκιαγράφηση του περιβάλλοντος στο οποίο καλείται να δράσει η β-ενδορφίνη.

Το δεύτερο μέρος της μελέτης αρχίζει με περιγραφή της παραγωγής της β-ενδορφίνης και των υποδοχέων της και συνεχίζει με την παραγωγή της από τα λευκά αιμοσφαίρια και τη δράση της σε περιβάλλον ιστικής φλεγμονής, ερευνητικό πεδίο που έκανε την εμφάνισή του πριν αρκετά χρόνια, πιο συστηματικά και οργανωμένα όμως την τελευταία δεκαετία. Η διπλωματική καταλήγει με τα αποτελέσματα ερευνών σε κλινικό επίπεδο και στο κατά πόσο οι παρατηρήσεις σε κυτταρικό επίπεδο επιβεβαιώνονται σε έρευνες σε ασθενείς. Το τελευταίο αυτό κομμάτι αποδείχθηκε ιδιαίτερα δύσκολο, λόγω της απουσίας ικανού πλήθους μελετών και της ανομοιογένειας αυτών που υπάρχουν, ένδειξη ίσως ότι η διεθνής βιβλιογραφία έχει ακόμα να πει πάρα πολλά πάνω στο θέμα. Για τους σκοπούς της μελέτης έγινε ανασκόπηση βιβλιογραφίας (literature review) από αρκετές μηχανές αναζήτησης και πάνω στο κυρίως κομμάτι της εργασίας, που αφορά τη δράση της β-ενδορφίνης σε φλεγμονώδες περιβάλλον και τις προεκτάσεις της δράσης της σε κλινικό επίπεδο. Για αντικειμενικούς λόγους η έρευνα περιορίστηκε σε μελέτες γραμμένες στην αγγλική γλώσσα.

ΔΟΜΕΣ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΛΓΑΙΣΘΗΣΙΑΣ

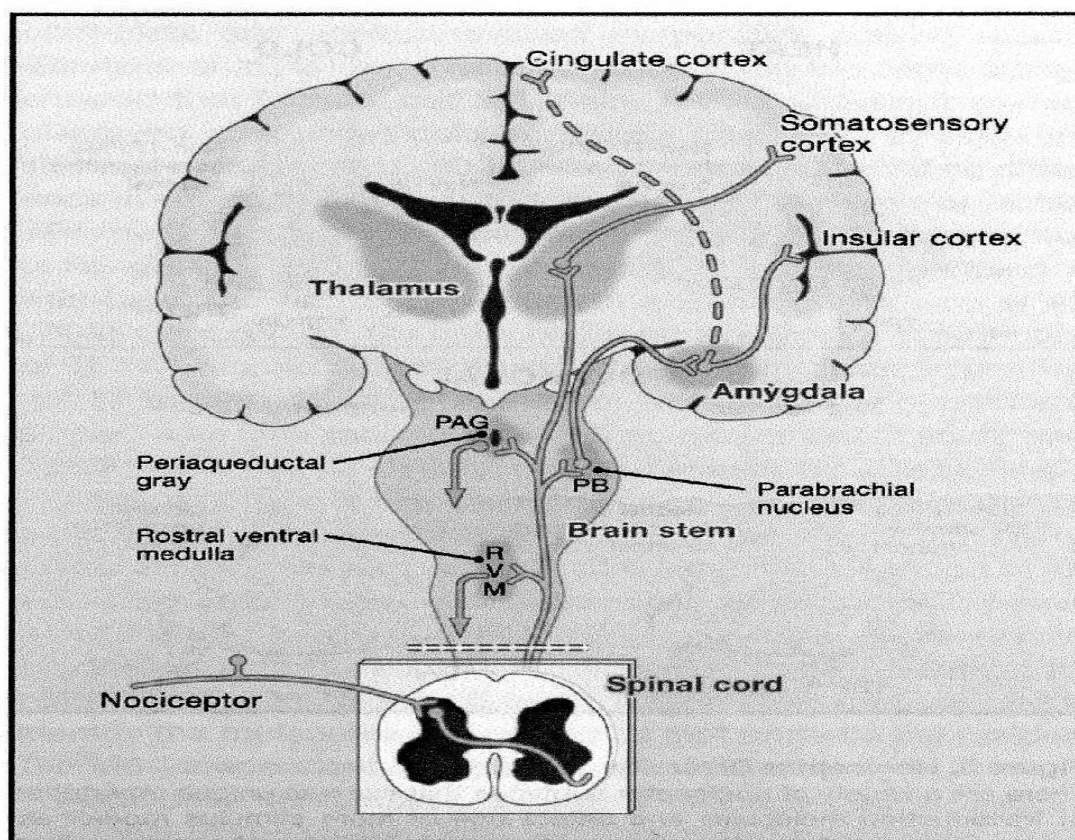
Τα ερεθίσματα που γίνονται αντιληπτά ως πόνος, “συλλαμβάνονται” από ελεύθερες νευρικές απολήξεις του δέρματος και των σπλάχνων, τους αλγοϋποδοχείς. Πρόκειται για νευρικές απολήξεις οι οποίες μετατρέπουν σε δυναμικά ενεργείας ερεθίσματα που προκαλούν ή απειλούν να προκαλέσουν βλάβη στους ιστούς. Οι αλγοϋποδοχείς αποτελούνται από ίνες Αδ ή C, τα άκρα των οποίων, σε έκταση 100-400μm, στερούνται μυελίνης, βρίσκονται δε σε εγγύτητα με μικρά αγγεία και μαστοκύτταρα. Η τριάδα αυτών των στοιχείων (αλγοϋποδοχείς, μαστοκύτταρα, αγγεία) αποτελεί τη λειτουργική μονάδα ανίχνευσης και αγωγής αλγογόνων ερεθισμάτων. (Sorkin LS and Wallace MS, 1999).

Το ερέθισμα ερμηνεύεται ως πόνος στο σωματοαισθητικό φλοιό του εγκεφάλου, αφού “διανύσει” απόσταση τριών νευρώνων. Ο πρωτοπαθής νευρώνας, που στο περιφερικό άκρο του λειτουργεί ως αλγοϋποδοχέας, εκτείνεται από το σημείο προσβολής έως το οπίσθιο κέρασ του νωτιαίου μυελού. Ο δευτεροπαθής νευρώνας εκτείνεται από το οπίσθιο κέρασ, όπου συνάπτεται με τον πρωτοπαθή, έως τα βασικά γάγγλια του εγκεφάλου. Ο τελευταίος νευρώνας πορεύεται από τα βασικά γάγγλια μέχρι το φλοιό του εγκεφάλου, όπου αποκωδικοποιούνται η ένταση και προέλευση του ερεθίσματος. Κατά τη διαδρομή του το ερέθισμα “προβάλλει” τις πληροφορίες του και σε άλλες περιοχές του ΚΝΣ, απαραίτητες για την αφομοίωση της εμπειρίας του άλγους, όπως η έλικα του προσαγωγίου και η νήσος του Reil, καθώς και σε πυρήνες του εγκεφαλικού στελέχους για την ενεργοποίηση ανατροφοδοτικών (feedback) κυκλωμάτων που παίζουν ρόλο στην τροποποίησή του. (εικ 1)

Τα κυτταρικά σώματα των αλγοϋποδοχέων ανήκουν στην κατηγορία των ψευδομονόπολων νευρικών κυττάρων και εντοπίζονται στα αισθητικά νωτιαία γάγγλια (dorsal root ganglia) για τις ίνες του σώματος και στο τρίδυμο γάγγλιο για τις ίνες του προσώπου. Διαθέτουν δύο άξονες, έναν κεντρικό, για σύναψη με το 2ο νευρώνα στο νωτιαίο μυελό, και έναν περιφερικό που απολήγει στον ιστό ή σπλάχνο της περιφέρειας.

Οι αλγοϋποδοχείς εμφανίζουν ειδικότητα στην αναγνώριση του ερεθίσματος, άγουν δηλαδή ερεθίσματα των οποίων η ένταση τα καθιστά δυνητικά βλαβερά για τον οργανισμό, ενώ δε διεγείρονται από αβλαβή ερεθίσματα, όπως αφής ή πίεσης. Η φύση της ενέργειας που ασκείται στον αλγοϋποδοχέα μπορεί να είναι θερμική (κρύο ή ζεστό ερέθισμα), χημική ή μηχανική. Κάποιοι υποδοχείς εμφανίζουν ευαισθησία σε μίας μορφής

ενέργεια (πχ θερμική ή μηχανική, όχι και στις δύο). Εξελικτικοί μηχανισμοί ωστόσο οδήγησαν στην ανάπτυξη υποδοχέων πόνου ευαίσθητων σε όλες τις μορφές αλγεϊνών



ερεθισμάτων. Οι τελευταίοι καλούνται πλειοτροπικοί υποδοχείς (polymodal nociceptors).

Εικόνα 1: οδοί μετάδοσης αλογόνων ερεθισμάτων. Από Sorkin LS et al, 1999

Υπάρχουν δύο κύριες ομάδες αλγοϋποδοχέων, οι Αδ και οι C ίνες, που νευρώνουν τόσο το δέρμα, όσο και την επιφάνεια των σπλάχνων, συμπεριλαμβανομένων του περιostέου, των αρθρώσεων, των μυών και των ορογόνων υμένων (περιτόναιο, περικάρδιο, υπεζωκότας, μήνιγγες).

Οι Αδ νευρικές απολήξεις είναι μέσης διαμέτρου μυελινοποιημένες νευρικές ίνες που άγουν τον οξύ, σαφώς εντοπισμένο πόνο. Είναι υπεύθυνες για το αρχικό αίσθημα άλγους, λόγω της μεγάλης ταχύτητας αγωγής (5-36 m/sec). Ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες διέκριναν στους υποδοχείς Αδ του δέρματος δύο υποκατηγορίες: Τύπος 1, που αντιδρά σε μηχανικά και χημικά ερεθίσματα, αλλά με υψηλή ουδό για τα αντίστοιχα θερμικά (>50ο C) και οι τύπου 2, με πολύ χαμηλότερη ουδό για τα θερμικά, αλλά πολύ υψηλή για τα μηχανικά ερεθίσματα.

Οι C ίνες συνιστούν το 65-70% των κεντρομόλων ινών που εισέρχονται στο

νωτιαίο μυελό. Είναι ελαφρά μυελινοποιημένες ή χωρίς έλυτρο μυελίνης και εμφανίζουν επίσης ετερογένεια. Όπως ισχύει και με τις Αδ, οι περισσότερες C ίνες είναι πλειοτροπικές, αφού διεγείρονται και από τις τρεις κατηγορίες αλγεινών ερεθισμάτων (θερμικά, μηχανικά και χημικά), μεταφέροντας το αίσθημα του επίμονου, ασαφώς εντοπισμένου άλγους που ακολουθεί τον αρχικό, οξύ πόνο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει μια υποομάδα τους, που καλούνται σιωπηλοί υποδοχείς (silent nociceptors). Η ονομασία αυτή οφείλεται στην ιδιότητά τους να μη διεγείρονται από μηχανικά ερεθίσματα παρά μόνο σε περιβάλλον φλεγμονής, όταν οι χημικές ουσίες που απελευθερώνονται στην περιοχή της φλεγμονής αλλάζουν τις ιδιότητες των ινών. Σιωπηλοί υποδοχείς αναγνωρίζονται και στην ομάδα των Αδ ινών που νευρώνουν σπλάχνα. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν είναι όλες οι C ίνες αλγοϋποδοχείς. Κάποιες αντιδρούν σε ψυχρά ερεθίσματα, ενώ άλλες άγουν ερεθίσματα ελαφράς πίεσης σε τριχωτό δέρμα. Νευροανατομικές και μοριακές μελέτες των C ινών οδήγησαν σε περαιτέρω διάκριση των υποδοχέων τους σε δύο κατηγορίες: στους πεπτιδεργικούς, που απελευθερώνουν νευροπεπτίδια όπως το γονιδιο-σχετιζόμενο με την καλσιτονίνη πεπτίδιο (calcitonin gene-related peptide, CGRP), ουσία P (SP), σωματοστατίνη, αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο και γαλανίνη. Στους μη πεπτιδεργικούς, που εκφράζουν το νευροτροφικό υποδοχέα c-Ret που συνδέεται με νευροτροφικούς παράγοντες όπως ο GDNF (glial derived neurotrophic factor). Υποομάδες των μη πεπτιδεργικών υποδοχέων καθορίζονται από επιμέρους υποδοχείς που εκφράζουν στην επιφάνεια της μεμβράνης τους, συμπληρώνοντας με αυτόν τον τρόπο την πολυπλοκότητα της κατάταξής τους. Καθένας από τους υποδοχείς αυτούς δεσμεύει συγκεκριμένη ουσία από το πλήθος των ουσιών που εμφανίζονται σε περιβάλλον ιστικής βλάβης, βοηθώντας έτσι στην ολοκληρωμένη επίγνωση της απειλής.

Το αλγογόνο ερέθισμα γίνεται αντιληπτό χάρη σε τρεις ιδιότητες του μηχανισμού αλγαισθησίας:

Μεταγωγή (transduction): είναι η μετατροπή μιας μορφής ενέργειας σε άλλη. Συμβαίνει σε διάφορα στάδια κατά την πορεία του μηχανισμού αλγαισθησίας, πχ το χημικό ερέθισμα στην περιοχή ιστικής βλάβης σε ηλεκτρικό στους νευρώνες, το ηλεκτρικό ερέθισμα της νευρικής ώσης σε χημικό στην περιοχή των συνάψεων κοκ.

Μετάδοση (transmission): είναι η ικανότητα του αλγαισθητικού μηχανισμού να μεταφέρει την πληροφορία του πόνου με τη μορφή ηλεκτρικού ερεθίσματος κατά μήκος των νευρικών κυττάρων και των συνάψεών τους.

Ρύθμιση (modulation): πρόκειται για την ικανότητα ρύθμισης του ερεθίσματος

προς τα πάνω ή προς τα κάτω (ενίσχυση ή καταστολή του), που συμβαίνει δυνητικά σε όλα τα επίπεδα του μηχανισμού αλγαισθησίας, από τον πρωτοπαθή νευρώνα έως τα ανώτερα εγκεφαλικά κέντρα. (overview of pain pathways p3)

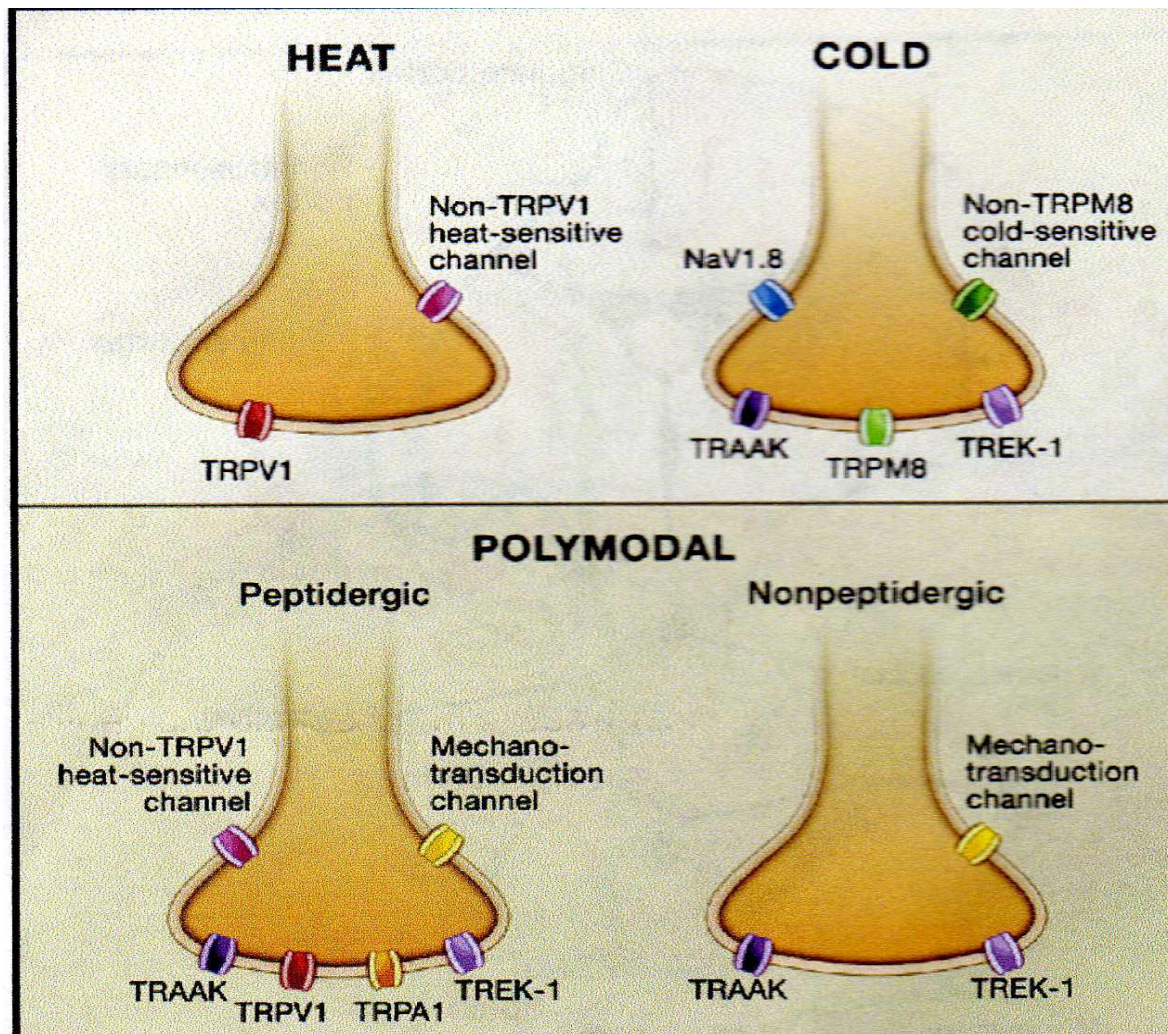
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟΪΠΟΔΟΧΕΑ: ΘΕΡΜΙΚΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ TRPV1

Είναι γνωστό ότι οι περισσότερες νευρικές ίνες που διαθέτουν ελεύθερες νευρικές απολήξεις για τον πόνο είναι πλειοτροπικές, άγουν δηλαδή ηλεκτρικά σήματα από χημικά, μηχανικά και θερμικά αλγογόνα ερεθίσματα. Αυτό προϋποθέτει πιο περίπλοκη δομή στα περιφερικά άκρα τους, συνιστά δε προϊόν εξέλιξης. Η αναγνώριση μεγάλου εύρους και ποικιλίας ερεθισμάτων επιτυγχάνεται χάρη στην ύπαρξη διαφορετικών διαμεμβρανικών ιοντικών καναλιών στην επιφάνεια του αλγοϋποδοχέα (εικ 2).

Κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες στον άνθρωπο ανέδειξαν την ύπαρξη σαφούς ορίου ανάμεσα στο αβλαβές και επιβλαβές θερμικό ερέθισμα. Το όριο αυτό, πάνω από το οποίο το άτομο αντιλαμβάνεται το ζεστό ως πόνο, τοποθετείται στους 43ο Κελσίου, αντιστοιχεί δε στην ουδό ενεργοποίησης των C και Aδ τύπου II ελεύθερων νευρικών απολήξεων του πόνου. Όντως, *in vitro* μελέτες σε νευρώνες ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων ανέδειξαν ουδό ενεργοποίησης τους 43ο, με μια μικρότερη υποομάδα να ευαισθητοποιείται από ακόμα πιο θερμά ερεθίσματα (50ο Κελσίου).

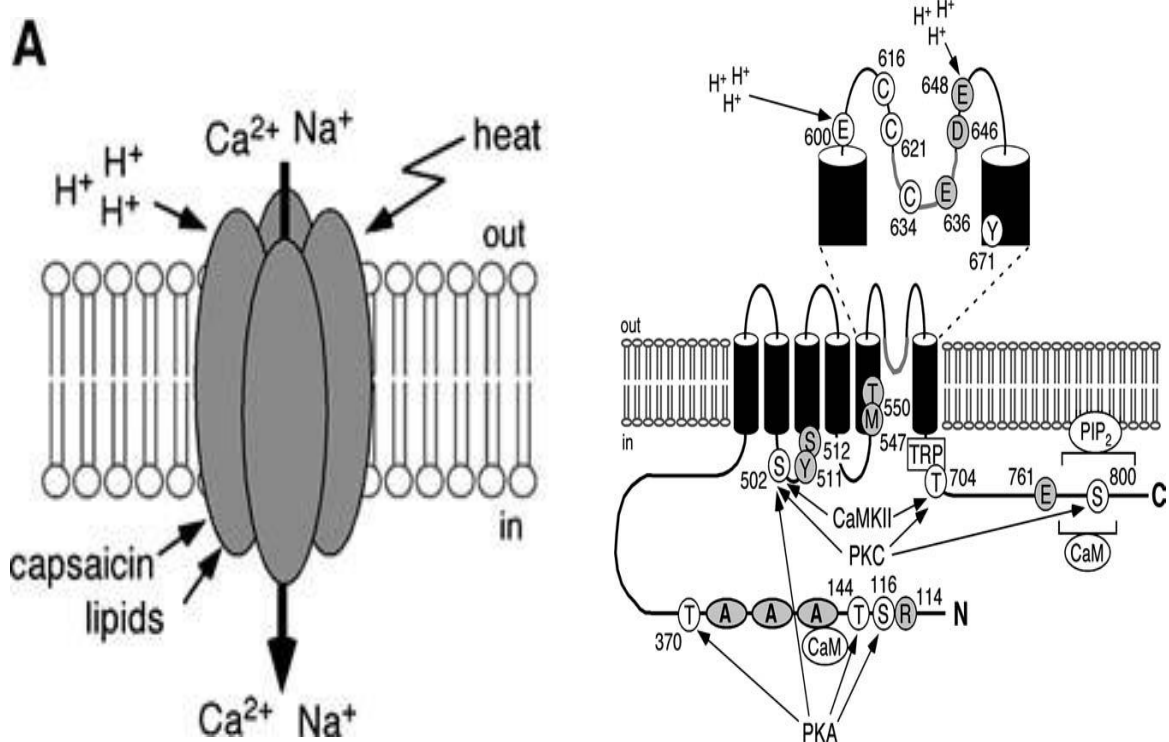
Μοριακές μελέτες στην αίσθηση του θερμού προήλθαν από την απομόνωση και αποκωδικοποίηση των ιδιοτήτων του υποδοχέα της καψαϊκίνης, που είναι το “καυστικό” συστατικό των κόκκινων καυτερών πιπεριών. Ο υποδοχέας αυτός φέρει το κωδικό όνομα TRPV1 (*transient receptor potential, member 1*) και είναι γνωστός πλέον ο κυρίαρχος ρόλος του στην αγωγή αλγογόνων θερμικών ερεθισμάτων.

Αν και ο TRPV1 απομονώθηκε και κλωνοποιήθηκε το 1997, η ιστορία του ξεκινάει μισό αιώνα πριν, όταν αποκαλύφθηκε η φαρμακολογία της καψαϊκίνης. Πρώτος ο Ούγγρος φαρμακολόγος Nicolas Jancso το 1960, αναγνώρισε ότι η καψαϊκίνη δρα ειδικά πάνω σε νευρικές απολήξεις του πόνου για την εκδήλωση της δράσης της. Μετέπειτα έρευνες ουγγρικών ερευνητικών ομάδων τη δεκαετία του 1970 έδειξαν ότι η επίδραση της καψαϊκίνης γίνεται επί συγκεκριμένων υποδοχέων των νευρικών ινών, σήμερα γνωστούς με τη συγκεκριμένη κωδική ονομασία.



Εικόνα 2: απεικόνιση πλειοτροπικών νευρικών απολήξεων για αλγογόνα ερεθίσματα, οι οποίοι διαθέτουν πολλά και εξειδικευμένα κανάλια, συνιστούν προϊόν εξέλιξης των ειδών. Από Basbaum AI et al, 2009

Ο TRPV1 είναι το πρώτο μέλος (member 1) της υποοικογένειας των TRPV, της οικογένειας των TRP ιοντικών καναλιών, που πρωτοπεριγράφηκαν σε μεταλλαγμένα στελέχη της *Drosophila Melanogaster*. Μέχρι τώρα, τουλάχιστον 28 διαφορετικά γονίδια έχουν αναγνωριστεί στα θηλαστικά, που κωδικοποιούν τη σύνθεση υπομονάδων 6 υποοικογενειών ιοντικών καναλιών TRP: TRPC, TRPV, TRPM, TRPA, TRPN, TRPP. Η υποοικογένεια των TRPV περιλαμβάνει 6 μέλη, TRPV1-TRPV6. Ο TRPV1 έχει δομή τετραμερούς και αποτελείται από έξι διαμεμβρανικά τμήματα, με το καρβοξυτελικό και αμινοτελικό άκρο να βρίσκονται ενδοκυττάρια, ενώ μεταξύ των τμημάτων 5 και 6 σχηματίζεται υδρόφοβος πόρος για τις ανάγκες της λειτουργίας του (Makoto Tominaga 2005, Arpaad Szallazi et al 2007, P Holzer 2008, εικ 3).



Εικόνα 3: σχηματική δομή, όπου φαίνεται η τετραμερής, διαμεμβρανική μορφή και κατάλοιπα αμινοξέων (με μαύρο χρώμα) που συμμετέχουν στη λειτουργία του TRPV1. PIP₂ : διφωσφορική φωσφατιδυλινωσιτόλη, συνδεδεμένη στο καρβοξυτελικό άκρο του καναλιού, CaM : καλμοδουλίνη, συνδεδεμένη στο καρβοξυτελικό και αμινοτελικό άκρο, PKA: πρωτεϊνική κινάση Α, PKC: πρωτεϊνική κινάση C. Πρωτόνια που δρουν επί καταλοίπων γλυκίνης των εξωκυττάρων ελίκων του βανιλλοειδούς υποδοχέα. Από Tominaga M et al, 2005.

Εκτός από την καψαϊκίνη και τις θερμοκρασίες >43ο, ο υποδοχέας ενεργοποιείται από μια πλειάδα άλλων ερεθιστικών ουσιών, από χαμηλό PH, διάφορα λίπη, διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού κα, ενώ φαίνεται πως παίζει σημαντικό ρόλο στην αγωγή του φλεγμονώδους πόνου και των μηχανικών ερεθισμάτων. Ο υποδοχέας TRPV1 εκφράζεται σε όλα τα αισθητικά γάγγλια (οπίσθια ραχιαία, τριδύμου και πνευμονογαστρικού νεύρου), στις ίνες Αδ και C, στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε μη νευρικό ιστό, όπως κερατινοκύτταρα, μαστοκύτταρα, θυλάκους τριχών, λείες μυϊκές ίνες, ουροδόχο κύστη, ήπαρ, νεφρό, σπλήνα και πνεύμονες (Andres Jara-Oseguera et al 2008).

Σειρά ευρημάτων υποστηρίζουν την υπόθεση ότι το ενεργοποιητικό ερέθισμα του TRPV1 είναι θερμικό. Πρώτον, ο TRPV1 εκφράζεται στην πλειονότητα των

θερμοευαίσθητων αλγοϋποδοχέων. Εξάλλου, τα χαρακτηριστικά των δυναμικών ενέργειας που έχουν παρατηρηθεί ότι προκαλούνται από την καψαϊκίνη (εγνωσμένου συνδέτη του TRPV1) και τις υψηλές θερμοκρασίες είναι παρόμοιες, αν όχι ίδιες. Τρίτον, το συγκεκριμένο κανάλι εμφανίζει μεγάλη ευαισθητοποίηση υπό την επίδραση προφλεγμονωδών παραγόντων, όπως εξωκυττάρια πρωτόνια, ουδετερόφιλα ή βραδυκινίνη, παράγοντες γνωστοί για την πρόκληση υπερευαισθησίας στο θερμό *in vivo*, κάτι που υποδηλώνει ότι οι TRPV1 και ο μηχανισμός αλγαισθησίας στο θερμικό ερέθισμα σχετίζονται. Επίσης, μελέτες σε πειραματόζωα που στερούνται των συγκεκριμένων καναλιών ανέδειξε όχι μόνο απώλεια ευαισθησίας στην επίδραση της καψαϊκίνης, αλλά σημαντική διαταραχή στην ικανότητά τους να ανιχνεύουν και να αντιδρούν στο επιβλαβές θερμικό ερέθισμα. Οι ίδιες μελέτες αποκάλυψαν επίσης το σημαντικό ρόλο του υποδοχέα βανιλλοειδών στη διαδικασία πρόκλησης υπερευαισθησίας στο θερμό σε περιβάλλον ιστικής κάκωσης και φλεγμονής, δίνοντας στους TRPV1 ρόλο μεσολαβητή στο φλεγμονώδη πόνο, κάτι που θα αναλυθεί αργότερα.

Η συμβολή του ενδογενούς υποδοχέα βανιλλοειδών της οικογένειας TRP στην αίσθηση του έντονα θερμικού ερεθίσματος έχει αμφισβητηθεί, παρόλα αυτά, από δεδομένα σε *ex vivo* μελέτες πάνω σε ραχιαία αισθητικά γάγγλια πειραματόζωων που διέθεταν τους υποδοχείς και αντίστοιχων μεταλλαγμένων, με συγγενή έλλειψη του υποδοχέα. Οι συγκεκριμένες μελέτες δεν ανέδειξαν σημαντικές διαφορές στην αντίδραση στο αλγογόνο θερμικό ερέθισμα.

Με δεδομένα τα συμπεράσματα εργασιών, η επιστημονική παρατήρηση που προκύπτει είναι ότι τα ιοντικά κανάλια TRPV1 αναμφισβήτητα συμβάλλουν στην αντίληψη του μείζονα θερμικού ερεθίσματος, αν και δεν είναι αποκλειστικά υπεύθυνα για την αλγαισθησία αυτή. Άλλα μέλη της υποοικογένειας των TRPV καναλιών, συγκεκριμένα οι TRPV2,3 και 4, έχουν προκύψει ως υποψήφιοι θερμικοί μορφοτροπείς, ανιχνεύοντας πολύ υψηλές (>50ο), όσο και μέτριες (>35ο) θερμοκρασίες. Στο πλαίσιο αυτό, οι TRPV2 εμφανίζουν ενεργοποίηση σε θερμοκρασίες περί τους 52ο, ενώ τα μέλη 3 και 4 της υποοικογένειας ενεργοποιούνται σε θερμοκρασίες μεταξύ 25-35ο. Οι TRPV2 εκφράζονται σε υποπληθυσμό Αδ νευρώνων που ανταποκρίνονται σε υψηλές θερμοκρασίες, ενώ περαιτέρω φυσιολογικές ή συμπεριφοριολογικές μελέτες σε πειραματόζωα λείπουν. Εργασίες συμπεριφοράς σε ποντίκια με έλλειψη των TRPV3 και TRPV4 έδειξαν ότι αυτά παρουσιάζουν διαταραγμένη αντίληψη του θερμού, όταν τοποθετούνται σε επιφάνεια με διαβαθμισμένες θερμοκρασίες. Ενδιαφέρον παρουσιάζει δε η διαπίστωση της έντονης

έκφρασης αυτών των καναλιών (TRPV3-TRPV4) σε κερατινοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα, σε σχέση με το βαθμό έκφρασής τους σε αισθητικούς νευρώνες, γεννώντας την άποψη ότι η ανίχνευση θερμών ερεθισμάτων από τον οργανισμό μπορεί να είναι αποτέλεσμα λειτουργικής αλληλεπίδρασης μεταξύ δέρματος και υποκείμενων πρωτοπαθών νευρώνων που εκφράζουν τους TRPV1 (Allan I Basbaum et al, 2009).

ΤΑ ΜΗΧΑΝΟ-ΕΥΑΙΣΘΗΤΑ ΚΑΝΑΛΙΑ K^+ TRAAK ΚΑΙ TREK-1 ΣΤΗΝ ΑΛΓΑΙΣΘΗΣΙΑ ΑΠΟ ΘΕΡΜΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ

Οι υποδοχείς K^+ TREK-1 ανήκουν στην ίδια οικογένεια με τους TREK-2 και TRAAK. Πρόκειται για κανάλια καλίου που διεγείρονται από θερμικά και μηχανικά ερεθίσματα, εκφράζονται δε στα ραχιαία αισθητικά γάγγλια.

Οι TREK-1 ήταν τα πρώτα κανάλια καλίου που αναγνωρίστηκαν ως αγωγοί μηχανικών ερεθισμάτων. Μετέπειτα μελέτες τα αναγνώρισαν ως αισθητήρες κυττάρων των επιβλαβών θερμικών ερεθισμάτων, που παρουσιάζουν 20πλάσια αύξηση λειτουργικότητας, όταν η θερμοκρασία ανεβαίνει από τους 22 στους 42 βαθμούς (Chemin et al, 2005). Ομοίως και τα κανάλια καλίου TRAAK, ευαίσθητα σε μηχανικά ερεθίσματα, εμφανίζουν 12πλάσια έως 20πλάσια αύξηση λειτουργικότητας, όταν η θερμοκρασία αυξάνει από τους 17 στους 40 βαθμούς, ενώ σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 42 °C η δράση αυτή των υποδοχέων καταστέλλεται απότομα (Kang et al, 2005).

Οι ιδιότητες των θερμο-ευαίσθητων νευρώνων μελετήθηκαν με τη χρήση καλλιέργειών ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων (dorsal root ganglion, DRG) από ποντίκια και απεικονιστικών μεθόδων που κατέγραφαν τη διακυττάρια κινητικότητα ασβεστίου. Ο πληθυσμός των μικρών νευρώνων DRG συμπεριλαμβάνει δύο τύπους αισθητικών νευρικών ινών που ανταποκρίνονται σε αύξηση θερμοκρασίας μεταξύ 30 και 48 βαθμών. Ο κυρίαρχος τύπος αντιπροσωπεύει 24% των νευρώνων DRG και είναι ευαίσθητοι σε θερμά ερεθίσματα και στην καψαϊκίνη. Ο άλλος τύπος αντιπροσωπεύει περίπου 10% του νευρωνικού πληθυσμού και είναι ευαίσθητος στη ζέστη, αλλά απουσιάζει από αυτούς δραστηριότητα στην καψαϊκίνη. Απομάκρυνση των καναλιών TREK-1 και TRAAK οδηγεί σε δραστηκή αύξηση, της τάξης του 3,5, του πληθυσμού των θερμο-ευαίσθητων, απευαισθητοποιημένων στην καψαϊκίνη νευρώνων. Το τελικό αποτέλεσμα είναι ότι μετά από εξάλειψη των TREK-1 και TRAAK το 60-70% των νευρώνων DRG, αντί για 34% του

wild type πληθυσμού ενεργοποιούνται σε θερμοκρασία 48o C και άνω. Σαφώς, η λειτουργία των εν λόγω καναλιών φαίνεται πως είναι η σίγαση θερμο-ευαίσθητων αλγοϋποδοχέων, πιθανά μέσω εξισορρόπησης δραστηριότητας άλλων, ανταποκρινόμενων στη ζέστη καναλιών. Η ουδός εκπόλωσης του θερμικού αλγοϋποδοχέα θα είναι αποτέλεσμα αντίθετης δράσης των θερμοευαίσθητων καναλιών διαπερατών σε Na⁺ από τη μία και των καναλιών TREK-1 και TRAAK από την άλλη μεριά. Εξάλειψη των TREK-1 και TRAAK οδηγεί σε έκφραση περισσότερων θερμικών αλγοϋποδοχέων (Woodbury *et al*, 2004). Ποια είναι τα κανάλια που εκπολώνονται στη ζέστη και εντοπίζονται σε απευαισθητοποιημένους στην καψαϊκίνη νευρώνες και των οποίων τη δράση προσπαθούν να εξισορροπήσουν οι TREK-1 και TRAAK υποδοχείς; Πιθανά οι TRPV3 και TRPV4 υποδοχείς, για τους οποίους έγινε λόγος πιο πάνω, χωρίς ωστόσο να αποκλείεται και η ύπαρξη άλλων, μη αναγνωρισμένων ακόμα καναλιών (Dhaka *et al*, 2006, Abrahamsen *et al*, 2008).

Οι TREK-1 και TRAAK υποδοχείς ανευρίσκονται επίσης και σε αλγοϋποδοχείς που συνεκφράζουν τους TRPV1. Οι αλγοϋποδοχείς αυτοί, που ανήκουν σε Αδ και όχι σε C ίνες, ενεργοποιούνται σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες, 48o και άνω (Voets *et al*, 2004).

Ο ρόλος, επομένως, της δράσης των καναλιών καλίου είναι το “φρενάρισμα” της εκπόλωσης των θερμο-ευαίσθητων αλγοϋποδοχέων. Ενώ οι TRPV1 διεγείρονται σε θερμοκρασία περί τους 42o, η παρουσία των καναλιών καλίου καθυστερεί την εκπόλωση έως ότου τα ερεθίσματα ξεπεράσουν τους 50o κελσίου. Εξάλειψη των TREK-1 και TRAAK μειώνει την ουδό εκπόλωσης κατά 3-5o. Η δεύτερη επίδραση της εξάλειψής τους είναι η αύξηση του πληθυσμού αλγοϋποδοχέων που διεγείρονται σε κάθε δεδομένη θερμοκρασία από 30-50o, ενισχύοντας έτσι την αίσθηση του πόνου. Τα παραπάνω συμπεράσματα, που εξήχθησαν μέσα από πειράματα σε καλλιέργειες κυττάρων και παρατηρήσεις σε ποντίκια, αναδεικνύουν τον κεντρικό ρόλο των καναλιών TREK-1 και TRAAK στη ρύθμιση του θερμοστάτη των θερμο-ευαίσθητων αλγοϋποδοχέων, αλλά και στον τρόπο με τον οποίο γίνεται αντιληπτός ο πόνος μετά από εφαρμογή αλγογόνου θερμικού ερεθίσματος.

TRPM2, TRPM4 ΚΑΙ TRPM5

Ο TRPM2, το 2o μέλος της υποοικογένειας των transient receptor potential melastatin καναλιών, πρόσφατα βρέθηκε ότι ενεργοποιείται από θερμοκρασίες ίσες ή

μεγαλύτερες των 35° C. Παρ'ότι μόρια όπως η β-NAD και η ADP-ριβόζη είναι γνωστοί αγωνιστές του TRPM2, η δραστικότητα του καναλιού ενισχύεται από την εφαρμογή θερμού ερεθίσματος.

Οι TRPM4 και TRPM5 είναι μη εκλεκτικά κατιονικά κανάλια, μη διαπερατά στο ασβέστιο, που ωστόσο ενεργοποιούνται από αυξημένα επίπεδα ενδοκυττάριου ασβεστίου. Τα κανάλια αυτά ενεργοποιούνται σε θερμοκρασίες 15° - 35°. Ειδικότερα για τον TRPM5 έχει βρεθεί ότι επιπλέον εμπλέκεται έμμεσα στη μετάδοση της αίσθησης της γεύσης, μέσω διέγερσης των υποδοχέων γεύσης τύπου 1,2 και της φωσφολιπάσης C-β2 (T1R, T2R, PLCβ2).

Παρ'ότι τα παραπάνω κανάλια είναι ευαίσθητα στη ζέστη, δεν έχει ακόμα αναφερθεί έκφρασή τους στους αλγοϋποδοχείς. Επομένως, η συνεισφορά τους στην αλγαισθησία από θερμά ερεθίσματα παραμένει άγνωστη (Szallasi et al, 2007).

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟΪΠΟΔΟΧΕΑ: ΨΥΧΡΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ TRPM8 ΚΑΙ TRPA1 ΚΑΝΑΛΙΩΝ

Το ψύχος έχει την ιδιότητα να επηρεάζει αρνητικά την αισθητική και κινητική λειτουργία του περιφερικού νευρικού συστήματος, όπως μαρτυρούν οι αιμωδίες και υπαισθησία των δακτύλων των άκρων ποδών μετά από πολύωρη παραμονή μας σε ψυχρό περιβάλλον. Επιβλαβή ερεθίσματα ωστόσο παραμένουν ανιχνεύσιμα σε περιβάλλον ψύχους, ενώ επιβλαβή ψυχρά ερεθίσματα παράγουν αίσθηση άλγους, υποδηλώνοντας την ύπαρξη μηχανισμού για την αγωγή τέτοιων ερεθισμάτων στους αλγοϋποδοχείς, των οποίων η λειτουργία δεν επηρεάζεται από χαμηλές θερμοκρασίες. Η ικανότητα των ελεύθερων απολήξεων πόνου να μπορούν να λειτουργήσουν ικανοποιητικά σε ακραίες θερμοκρασίες είναι απαραίτητη για την επιβίωση του οργανισμού.

Όπως ισχύει με την επίδραση της καψαϊκίνης στους TRPV1, φυσικοί “ψυκτικοί” παράγοντες, όπως η μενθόλη και ο ευκάλυπτος, έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και τον αποχαρακτηρισμό ιδιοτήτων ψυχρο-ευαίσθητων νευριτών και κυττάρων. Πράγματι, οι περισσότεροι νευρώνες ευαίσθητοι σε ψυχρά ερεθίσματα, αντιδρούν στη δράση της μενθόλης αναδεικνύοντας ουδό ενεργοποίησης τους 25 βαθμούς κελσίου.

Ο TRPM8 είναι τέτοιο κανάλι, ευαίσθητο σε ψυχρά ερεθίσματα και στη δράση μενθόλης. Παρατηρήσεις σε ποντίκια με γενετική έλλειψη των αντίστοιχων γονιδίων για

τον TRPM8 ανέδειξαν σημαντική απώλεια της δυνατότητας του πειραματόζωου να εμφανίσει αντίδραση σε αυτά τα ερεθίσματα, σε κυτταρικό επίπεδο ή επίπεδο νευρικής ίνας. Παρομοίως και η συμπεριφοριολογική αντίδραση του πειραματόζωου σε θερμοκρασίες 10-30 βαθμών κελσίου παρουσιαζόταν αλλοιωμένη.

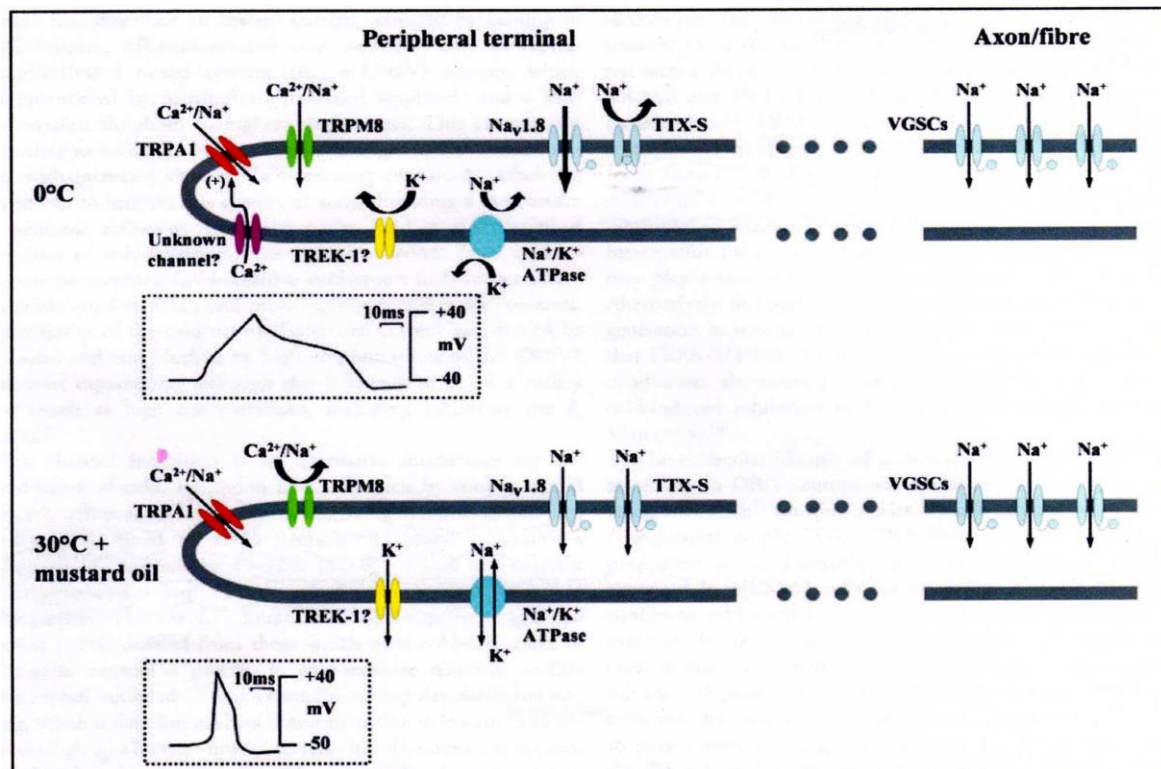
Αντίστοιχα και με τις παρατηρήσεις σχετικά με τα θερμά ερεθίσματα στους TRPV1, τα ποντίκια με γενετική έλλειψη των TRPM8 δεν είναι εντελώς αναίσθητα στο ψυχρό. Παραμένει μια υποομάδα (περίπου 4% του συνόλου των υποδοχέων για το ψυχρό), ευαίσθητων στο ψυχρό, αναίσθητων στη δράση μενθόλης νευρώνων (επομένως μη TRPM8 κανάλια), οι οποίοι έχουν χαμηλή ουδό ενεργοποίησης, περίπου 12 βαθμών κελσίου. Σε αυτούς αποδίδεται η διαπίστωση υπολειπόμενης ευαισθησίας σε ψυχρά ερεθίσματα που παρατηρούνται σε συμπεριφοριολογικά τεστ, στα οποία πειραματόζωα με γενετική έλλειψη των TRPM8 καναλιών εξακολουθούν να αποφεύγουν επιφάνειες με θερμοκρασία κάτω των 10 βαθμών. Επιπλέον, η ευαισθησία των ποντικών σε επιβλαβή θερμικά ερεθίσματα δε διαταράσσεται, παρά την έλλειψη των TRPM8. Αυτό συνάδει με τα συμπεράσματα μελετών που δείχνουν ότι οι πληθυσμοί καναλιών TRPV1 και TRPM8 βρίσκονται σε διαφορετικούς νευρωνικούς πληθυσμούς και ότι οι μηχανισμοί ανίχνευσης θερμού και ψυχρού οργανώνονται σε διακριτές ανατομικές και λειτουργικές περιοχές.

Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί για την αγωγή ψυχρών ερεθισμάτων δια των αλγούποδοχέων: απευθείας ενεργοποίηση του υπεύθυνου καναλιού (TRPM8), αναστολή λειτουργίας καναλιού διαφυγής ενδοκυττάριου καλίου, αναστολή αντλίας Na/K ATPase (εικ 4). Πιθανά όλοι αυτοί οι μηχανισμοί να ενεργοποιούνται σε περιβάλλον ψυχρού περιβάλλοντος, με τη συζήτηση να περιστρέφεται γύρω από το σχετικό ρόλο του καθενός από αυτούς.

Η ανεύρεση καναλιών που ενεργοποιούνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες από αυτές των TRPM8, καθώς και οι σχετικά υψηλές θερμοκρασίες ενεργοποίησης των τελευταίων, δημιουργούν ερωτηματικά για τη συμβολή των TRPM8 στην αγωγή των βλαβερών ψυχρών διεγέρσεων. Τα μέχρι τώρα συμπεράσματα δείχνουν ότι τα κανάλια TRPM8 διαδραματίζουν ρόλο στην ανίχνευση ψυχρού περιβάλλοντος, ωστόσο σε επιβλαβείς θερμοκρασίες, μικρότερες των 15 βαθμών, άλλοι μηχανισμοί αγωγής ψυχρού ερεθίσματος φαίνεται πως παίζουν σπουδαιότερο ρόλο. (*Dhaka A et al, 2007, Colburn RW et al, 2007*)

Άλλες μελέτες κατάφεραν να αναδείξουν την ύπαρξη μιας άλλης ομάδας καναλιών ευαίσθητων σε ψυχρά ερεθίσματα. Τα κανάλια αυτά, που διέθεταν δομή παρόμοια αυτής

της οικογένειας των TRP υποδοχέων, εκφράζονταν σε πληθυσμό πεπτιδεργικών αλγοϋποδοχέων που διέθεταν επίσης και τους TRPV1 (επομένως δε συνεκφράζονται με τους TRPM8), ενώ σε κυτταρικές σειρές εμφάνιζαν αντιδραστικότητα σε θερμοκρασίες



Εικόνα 4: άποψη πρωτοπαθούς κεντρομόλου νευρώνα σε ψυχρό περιβάλλον, όπου φαίνεται η λειτουργία των TRPM8 και TRPA1, καθώς και η αναστολή λειτουργίας καναλιών καλίου (TREK-1) και Na/K ATPase. Από T Foulkes et al, Mechanisms of Cold Pain, 2007.

μικρότερες των 17 βαθμών κελσίου, με επακόλουθη εισροή σε αυτά ιόντων ασβεστίου. Ήταν ευαίσθητα στην ισιλίνη, αλλά όχι στη μενθόλη και αρχικά είχαν την ονομασία ANKTM1 (Story et al 2003, Bandell et al 2004). Τα κανάλια αυτά μετονομάστηκαν σε TRPA1, εμφάνιζαν αντιδραστικότητα υπό την επίδραση ελαίου μουστάρδας και βρέθηκε ότι ευθύνονταν για μετάδοση πόνου από το ψύχος, σε περιβάλλον φλεγμονής.

Οι TRPA1 αποτελούν την κύρια εξήγηση της υπερευαισθησίας που παρατηρείται στο κρύο, σε συνθήκες νευροπαθητικού πόνου ή φλεγμονής. Σε καλλιέργειες αισθητικών νευρώνων διαπιστώθηκε ρύθμιση προς τα πάνω (upregulation) των καναλιών TRPA1, όταν σε αυτές αναπτυσσόταν φλεγμονή ή νευρική βλάβη. Ο μηχανισμός της προς τα πάνω ρύθμισης και η επακόλουθη υπερευαισθησία επάγεται από τον παράγοντα αύξησης

νεύρων (Nerve Growth Factor, NGF) μέσω του μοριακού δρόμου p38 MAPK. Σε αντίθεση με τους TRPA1, οι TRPM8 υποδοχείς δε φαίνεται να συμμετέχουν σε αυτό το μηχανισμό υπερευαισθησίας στο κρύο. Μελέτες μάλιστα διαπιστώνουν λειτουργική απευαισθητοποίηση των εν λόγω καναλιών σε οξειωτικό περιβάλλον ή σε επίδραση του προφλεγμονώδους παράγοντα της βραδυκινίνης. (Obata et al, 2005, Premkumar et al, 2005)

Η ενεργοποίηση των TRPA1 από το ψύχος περιλαμβάνει αύξηση ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου, που μπορεί να προέρχεται από το εξωτερικό περιβάλλον ή από ενδοκυττάρια αποθήκες. Η αύξηση αυτή του ασβεστίου μειώνει την ουδό ενεργοποίησης των καναλιών για την παραγωγή δυναμικών ενεργείας στο ψύχος. Το γεγονός ότι πολλά επιβλαβή ερεθίσματα έχουν το ίδιο άμεσο αποτέλεσμα (αύξηση ενδοκυττάριας ασβεστίου), καθώς και η διέγερση των TRPA1 από ευρεία βάση διαβιβαστών (έλαιο μουστάρδας, εκχύλισμα σκόρδου, προφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η βραδυκινίνη κα), έχουν οδηγήσει τους ερευνητές στην υπόθεση ότι τα συγκεκριμένα κανάλια δρουν πλειοτροπικά, ανταποκρινόμενα επιπλέον σε μηχανικά επιβλαβή ερεθίσματα, ενδεχομένως μέσα σε συνθήκες ψυχρού περιβάλλοντος. Τα συμπεράσματα αυτά υποστηρίζονται από παρατηρήσεις σε ποντίκια με γενετική έλλειψη των TRPA1. (Kwan et al, 2006, Zurborg et al, 2007, Macpherson et al, 2007).

Καθώς η έρευνα για αμιγείς υποδοχείς αλγογόνων ψυχρών ερεθισμάτων συνεχίζεται, αρκετές μελέτες κάνουν λόγο για πληθυσμούς νευρώνων ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων που δεν εκφράζουν ούτε τα TRPM8, ούτε τα TRPA1 κανάλια. Οι Munns et al διεπίστωσαν ότι μεγάλο ποσοστό ψυχρο-ευαίσθητων νευρώνων ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων δεν αντιδρούσαν σε αγωνιστές TRP καναλιών, όπως η μενθόλη (TRPM8) και το έλαιο μουστάρδας (TRPA1). Οι διαπιστώσεις συνάδουν με αυτές άλλων μελετών στις οποίες ποντίκια με γενετική έλλειψη των TRPM8 καναλιών βρέθηκαν να επιδεικνύουν αντιδράσεις στο ψύχος, χωρίς να εκφράζουν όμως ούτε τους TRPA1 υποδοχείς (Munns et al, 2007, Bautista et al, 2007). Οι παρατηρήσεις συμφωνούν στην ύπαρξη και άλλων μηχανισμών αγωγής επιβλαβών ψυχρών ερεθισμάτων στα ραχιαία αισθητικά γάγγλια.

Οι δράσεις και οι θερμοκρασίες ενεργοποίησής των κυριότερων καναλιών που παίζουν ρόλο στην αίσθηση αλγογόνων θερμών και ψυχρών ερεθισμάτων αποτυπώνεται στον παρακάτω πίνακα (Szallasi A et al, 2007)

Table 2 | **Function of thermoTRP channels and their relevance to pain**

Channel	Thermal threshold	Function and phenotype	Gene-targeted deletion	References
TRPV1	$\geq 43^{\circ}\text{C}$	Involved in noxious heat detection and mediates thermal hyperalgesia under inflammatory conditions	Two independent knockout studies	1, 11, 12
TRPA1	$\leq 17^{\circ}\text{C}$	Involved in noxious cold detection, mechanical and mustard oil- and bradykinin-induced hyperalgesia	Two independent knockout studies	63, 172, 177
TRPV2	$\geq 53^{\circ}\text{C}$	Responds to noxious heat in heterologous systems; upregulated during inflammation	Not reported so far	58, 152
TRPV3	$\geq 33^{\circ}\text{C}$	Involved in warm and noxious heat detection	One study	59, 154, 157
TRPV4	$\geq 25^{\circ}\text{C}$	Involved in warm temperature sensation; controversial reports about its involvement in mediating noxious heat pain and thermal hyperalgesia	Two independent knockout studies	60, 158–164
TRPM8	$\leq 23^{\circ}\text{C}$	Role in the detection of innocuous and noxious cold sensations remains to be determined	Not reported so far	61, 62

TRPA1, transient receptor potential subfamily ankyrin, member 1; TRPM8, TRP subfamily melastatin, member 8; TRPV1,2,3,4, TRP subfamily vanilloid, member 1,2,3 or 4.

λειτουργία καναλιών TRP και η συσχέτισή τους με την αλγαισθησία. Από Szallasi A et al, 2007

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ $\text{Na}_V 1.8$ ΚΑΝΑΛΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΓΩΓΗ ΤΟΥ ΨΥΧΟΥΣ

Όπως σημειώθηκε παραπάνω, οι αλγοϋποδοχείς επιδεικνύουν ιδιαίτερη αντοχή σε ακραία χαμηλές θερμοκρασίες, καταφέροντας να δίνουν πληροφορίες στον οργανισμό για το επίπεδο απειλής που συνιστά το ψύχος κάθε στιγμή, ενώ παίζουν ρόλο στην υπεραλγησία και αλλοδυνία από μηχανικά ερεθίσματα, σε ψυχρό περιβάλλον. Οι ιδιότητες αυτές των αλγοϋποδοχέων αποδίδεται στη λειτουργία των καναλιών νατρίου.

Τα ηλεκτρογενή κανάλια νατρίου (voltage-gated sodium channels, VGSCs) ομαδοποιούνται ανάλογα με την ευαισθησία τους στην τετροδοτοξίνη (TTX). Η πλειοψηφία των καναλιών είναι TTX-ευαίσθητα, δηλαδή αναστέλλεται η λειτουργία τους από συγκεντρώσεις TTX της τάξης του nM. Τα $\text{Na}_V 1.8$ και $\text{Na}_V 1.9$ ωστόσο, είναι ανθεκτικά στη δράση της τοξίνης. Τα ευαίσθητα κανάλια βρίσκονται σε όλους τους νευρώνες, απαραίτητα για την εκφόρτισή τους. Τα $\text{Na}_V 1.8$ αντιθέτως εκφράζονται σε υποπληθυσμό μικρής και μέσης διαμέτρου αισθητικών νευρώνων, 85% των οποίων συνιστούν αλγοϋποδοχείς.

Σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος (έως 30 βαθμούς), δυναμικά ενεργείας

δημιουργούμενα μηχανικά ή ηλεκτρικά σε καλλιέργειες κυττάρων, μπλοκάρονται κατόπιν εφαρμογής τетроδοτοξίνης, υποδηλώνοντας με τον τρόπο αυτόν τη σημασία των συγκεκριμένων καναλιών στη γένεση των δυναμικών. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ωστόσο (10°C) οι περισσότερες C ίνες δεν επηρεάζονται από την ύπαρξη της τοξίνης ανακτώντας μάλιστα μηχανική και ηλεκτρική διεγερσιμότητα. Κάτι τέτοιο δείχνει τη σημασία των τοξινο-άντοχων καναλιών νατρίου στη λειτουργία των C νευρικών ινών. Οι χαμηλές θερμοκρασίες φαίνεται πως βοηθούν τη λειτουργία των TTX-ανθεκτικών καναλιών μειώνοντας την ουδό ενεργοποίησής τους. Ο μηχανισμός με τον οποίο οι χαμηλές θερμοκρασίες ευοδώνουν τη διεγερσιμότητα των αλγοϋποδοχέων φαίνεται πως περιλαμβάνει καταστολή στη λειτουργία των TREK-1 καναλιών K και της Na/K/ATPase. Οι μεταβολές αυτές αυξάνουν την ηλεκτρική αντίσταση της μεμβράνης αυξάνοντας τη διαφορά δυναμικού υπό την επίδραση συγκεκριμένου ερεθίσματος. Συμπεριφοριολογικά τεστ σε ποντίκια με γενετική έλλειψη των Nav 1.8 απέδειξαν τη σχεδόν πλήρη απευαισθητοποίησή τους σε επιβλαβή ψυχρά ερεθίσματα, τονίζοντας έτσι το ρόλο-κλειδί των εν λόγω καναλιών στην αγωγή ώσεων σε περιβάλλον πολύ μικρών θερμοκρασιών, καθώς και ότι η γένεση δυναμικών ενεργείας σε τέτοιες θερμοκρασίες είναι αποκλειστικά δική τους υπόθεση (Zimmermann K et al, 2007).

Η μοναδική ανθεκτικότητα των VGSCs στο κρύο εξασφαλίζει τη διατήρηση λειτουργίας των αλγοϋποδοχέων σε χαμηλές θερμοκρασίες, επιτρέποντας με τον τρόπο αυτό αφενός την προφύλαξη του οργανισμού από επιβλαβή ψυχρά ερεθίσματα, αφετέρου την αισθητική αντίληψη άλλων επιβλαβών ερεθισμάτων σε συνθήκες κρύου. Η διατήρηση των καναλιών Nav 1.8 καθόλη την εξελικτική διαδικασία των ψυχρόαιμων όντων, επιβεβαιώνει τη σημασία τους στην επιβίωση.

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟϋΠΟΔΟΧΕΑ: ΜΗΧΑΝΙΚΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ

Το σωματοαισθητικό σύστημα νευρικών ινών ανιχνεύει ποικιλία, ποιοτικά και ποσοτικά, ερεθισμάτων, χρησιμοποιώντας διάφορους νευρωνικούς υπο-πληθυσμούς, για να εξασφαλίσει στα “κέντρα λήψης αποφάσεων” του ΚΝΣ, εικόνα της κατάστασης του οργανισμού, από την ύπαρξη ήπιας αφής στο δέρμα έως τη διάταση της ουροδόχου κύστης. Διαφορετικοί πληθυσμοί νευρωνικών ομάδων εντοπίζουν διαφορετικής έντασης

ερεθίσματα: υψηλής έντασης γίνονται αντιληπτά από τις υψηλής ουδού νευρικές ίνες C και Αδ, που απολήγουν ως ελεύθερες νευρικές απολήξεις στο δέρμα, ενώ χαμηλής έντασης “συλλαμβάνονται” από τις χαμηλής ουδού νευρικές ίνες ΑδD και Αβ, που εντοπίζονται στους θυλάκους των τριχών και στα σωματίδια του Merkel και Pacini, δίνοντας πληροφορίες υφής, δόνησης και ήπιας πίεσης.

Όπως ισχύει και με τα θερμικά ερεθίσματα, η μελέτη επίδρασης των μηχανικών ερεθισμάτων στους διάφορους υποδοχείς έχει γίνει εφικτή μέσα από πολλαπλά επίπεδα πειραματικών ερευνών. Αναδρομή, έστω και αδρή, στις προσπάθειες εξαγωγής συμπερασμάτων πάνω στο ειδικότερο ρόλο των μηχανο-ευαίσθητων υποδοχέων κρίνεται απαραίτητη, καθώς αποτυπώνει τη σχετικότητα, και ίσως την ασάφεια, των συμπερασμάτων που διέπουν τη γνώση πάνω στη λειτουργία μηχανο-ευαίσθητων υποδοχέων αλγογόνων νευρικών ινών.

Σε επίπεδο συμπεριφοριολογικών ερευνών η μηχανική ευαισθησία γίνεται αντικείμενο έρευνας με δύο κυρίως τρόπους: παρατηρώντας τις αντιδράσεις πειραματοζώων (ποντικών), που υφίστανται ερεθίσματα με τη χρήση βαθμονομημένων ινιδίων (ινίδια Von Frey) στα πέλματά τους και με τη χρήση αυξανόμενης πίεσης στο πέλμα ή στην ουρά τους δια συστήματος λαβίδων (Wetzel et al, 2007). Μια από τις προκλήσεις σε αυτό το πεδίο των ερευνών είναι ο σχεδιασμός επιπρόσθετων συμπεριφοριολογικών μελετών, που θα καταγράφουν αντιδράσεις πειραματοζώων σε διάφορες παραμέτρους της αίσθησης στα μηχανικά ερεθίσματα, όπως διαφορές στην υφή ή δόνηση του ερεθίσματος, κάτι που θα βοηθήσει τη μελέτη και της βλαπτικής (noxious) αφής.

Σε κυτταρικό επίπεδο, καταστάσεις πίεσης μπορούν να εξομοιωθούν με τη χρήση γυάλινων καθετήρων, ωσμωτικών αλλαγών ή εφαρμογής τάσης στην κυτταρική επιφάνεια καλλιέργειών σωματοαισθητικών νευρώνων ή των νευριτών τους, χωρίς ωστόσο να είναι σαφές ποιο είδος ερεθίσματος μιμείται καλύτερα την πίεση σε φυσιολογικές συνθήκες.

Για παράδειγμα, σε καλλιέργειες κυττάρων ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων από ποντίκια, ωσμωτικές αλλαγές οδηγούν σε οίδημα (διάταση μεμβράνης) ή αφυδάτωση (συρρίκνωση μεμβράνης) των κυττάρων, ασκώντας με αυτόν τον τρόπο δυνάμεις στις πρωτεϊνικές δομές τους, ενεργοποιώντας αλγοϋποδοχείς και παράγοντας πόνο. Το συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο βρίσκει την αντιστοιχία του στον πόνο που προκαλεί η ενδομυϊκή έγχυση υπέρτονου διαλύματος χλωριούχου νατρίου (Capra NF et al, 2004) και έχει οδηγήσει στην ομαδοποίηση των υποψήφιων ιοντικών καναλιών για τη μετάδοση

αλγογόνων ερεθισμάτων σε SAC (stretch activated channel) και SIC (stretch inactivated channel). Εξάλλου, μελέτες μηχανικής διέγερσης, με τους παραπάνω τρόπους, σε καλλιέργειες νευρώνων ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων από νεογέννητα ποντίκια κατέληξαν στην καταγραφή τουλάχιστον δύο διαφορετικών μηχανο-ευαίσθητων ιοντικών καναλιών, υψηλής και χαμηλής ουδού διέγερσης (Cho H et al, 2002). Άλλοι ερευνητές προχώρησαν την κατηγοριοποίηση των μηχανοευαίσθητων ιοντικών καναλιών σε αυτές τις καλλιέργειες νευρώνων με βάση τη διεγερσιμότητά τους από μηχανικά ερεθίσματα, αφού είχε προηγηθεί έγχυση προσταγλανδίνης E2 (προφλεγμονώδης παράγοντας) 10μM (Chen X et al, 1999). Σε κυτταρικό πάλι επίπεδο, μελέτες αποχαρακτηρισμού ανατομικών και βιοφυσικών λεπτομερειών των μηχανοευαίσθητων καναλιών ανέδειξαν τη σύνδεση υπομονάδων τους με δομές του κυτταροσκελετού, καθώς και της αύξησης επιπέδων ενδοκυττάριου ασβεστίου μετά από διέγερσή τους, ως απαραίτητα στοιχεία αγωγής δυναμικών ενεργείας από μηχανικά ερεθίσματα (Gotoh H et al 1999, Cho H et al, 2002)

Οι περισσότερες πληροφορίες έχουν εξαχθεί από ex vivo καταγραφές νευρικών απολήξεων δέρματος, με τις οποίες έχει γίνει αντιστοίχιση των ιδιοτήτων του ερεθίσματος (ένταση, συχνότητα, ταχύτητα, προσαρμογή) με συγκεκριμένες κατηγορίες νευρωνικών υποτύπων. Με τον τρόπο αυτό έχει αποκωδικοποιηθεί ότι οι ίνες Αβ, για παράδειγμα, εντοπίζουν ερεθίσματα με τα οποία γίνεται αντιληπτή η ήπια πίεση, ενώ οι ίνες C και Αδ συλλαμβάνουν κυρίως μηχανικά ερεθίσματα που είναι βλαβερά ή δυνητικά βλαβερά για τον οργανισμό.

Η έλλειψη μοριακών δεικτών, που θα χαρακτηρίζουν ειδικότερα τις αντιδράσεις νευρωνικών υπο-ομάδων στα διάφορα ερεθίσματα, αποτελεί περιορισμό στη μελέτη του μηχανισμού αντίληψης μηχανικών ερεθισμάτων. Διάφοροι υποψήφιοι υποδοχείς-ιοντικά κανάλια πρόσληψης μηχανικών ερεθισμάτων ποικίλλης έντασης έχουν προκύψει ωστόσο, κυρίως μέσω τεχνικών μοριακής στόχευσης σε ποντίκια και εφαρμογής των ανωτέρω μεθόδων σε πειραματόζωα με γενετικές ελλείψεις πρωτίνων μηχανοαισθησίας.

ΥΠΟΨΗΦΙΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΕΙΣ (TRANSDUCERS) ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΩΝ: ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ TRP ΚΑΝΑΛΙΩΝ

Τα TRPV2 κανάλια εκφράζονται σε αφθονία σε μέσης και μεγάλης διαμέτρου Αδ νευρικές ίνες. Σε ετερόλογη έκφραση των καναλιών αυτών έχει διαπιστωθεί ενεργοποίησή τους σε μεταβολές ωσμωτικής πίεσης. Τα TRPV2 που εντοπίζονται σε νευρικές απολήξεις λείων μυικών ινών στο τοίχωμα αγγείων είναι ένα τέτοιο παράδειγμα (Muraki et al, 2003).

Οι TRPV4 υποδοχείς εκφράζονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε νευρικές απολήξεις επιθηλιακών κυττάρων ουροποιητικής οδού, συμπεριλαμβανομένων νεφρικών κυττάρων και ουροθηλίου. Στα κύτταρα αυτά, μελέτες έχουν δείξει ότι τα εν λόγω κανάλια ενεργοποιούνται κατόπιν μεταβολών ωσμωτικής πίεσης (Guler et al, 2002, Mochizuki et al, 2009). Έρευνες σε πειραματόζωα με γενετική έλλειψη των καναλιών αυτών ανέδειξαν αδυναμία ρύθμισης αρτηριακής πίεσης και ελέγχου ουροδόχου κύστης (Gevaert et al, 2007). Επιπλέον, τα πειραματόζωα ενώ επιδείκνυναν φυσιολογικές αντιδράσεις σε οξέα μηχανικά ερεθίσματα που ασκούνταν στο δέρμα τους, εμφάνιζαν ελλειμματικές αντιδράσεις σε συνθήκες υπεραλγησίας (Grant et al, 2007, Alessandri-Haber et al, 2006). Το συμπέρασμα που προκύπτει είναι πως τα κανάλια TRPV4 πιθανά δε διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στη μεταγωγή μηχανικών ερεθισμάτων, αλλά συμβάλλουν στην υπερευαισθησία μετά από βλάβη.

Τα κανάλια TRPA1 έχουν επίσης προταθεί ως υποδοχείς μηχανικών ερεθισμάτων (Hill and Schaefer, 2007). Παρ'όλα αυτά, ποντίκια με γενετική έλλειψη των συγκεκριμένων καναλιών επιδεικνύουν σε μελέτες μικρή μόνο υπολειπόμενη αισθητικότητα, ενώ άλλες μελέτες δεν επιβεβαιώνουν τα ευρήματα αυτά (Bautista et al, 2006, Petrus et al, 2007). Τα δεδομένα δείχνουν πως, αν και τα κανάλια TRPA1 παίζουν ρόλο στη διεγερσιμότητα μηχανο-ευαίσθητων κεντρομόλων νευρικών ινών, δε φαίνεται να αποτελούν πρωτεύοντα υποδοχέα οξέων μηχανικών ερεθισμάτων.

ΥΠΟΨΗΦΙΟΙ ΜΕΤΑΓΩΓΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΩΝ: ΚΑΝΑΛΙΑ KCNK

Όπως ειπώθηκε παραπάνω, τα κανάλια TRAAK και TREK-1 ανήκουν στην οικογένεια των διαμεμβρανικών καναλιών καλίου, με ευαισθησία στα θερμά ερεθίσματα, έως τη θερμοκρασία των 42 C °. Έλλειψή τους σε γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα οδηγεί σε μεγαλύτερης συχνότητας εκφόρτιση των ελεύθερων νευρικών απολήξεων του πόνου και σε μικρότερες θερμοκρασίες. Η οικογένεια των καναλιών αυτών περιλαμβάνει

επίσης τα TWIK-1, TASK-1 (σε πάγκρεας, πλακούντα, πνεύμονες, εγκέφαλο και αλλού) και TASK-2 (στους νεφρούς), με κοινά χαρακτηριστικά την ύπαρξη τεσσάρων διαμεμβρανικών περιοχών και δύο περιοχών που λειτουργούν ως διάυλοι -two pore-domain potassium channels (Maingret F et al, 1999a,b).

Οι υποδοχείς TRAAK και TREK-1 ανευρίσκονται αποκλειστικά στο νευρικό σύστημα, σε διάφορες δομές, μεταξύ των οποίων στους νευρώνες ραχιαίων αισθητικών γαγγλίων, και έρευνες έχουν δείξει ότι πρόκειται για πλειοτροπικούς υποδοχείς, εξίσου ευαίσθητους σε ψυχρά, χημικά και μηχανικά ερεθίσματα. Διέγερσή τους επιτυγχάνεται μέσω διάτασης μεμβράνης καλλιέργειών νευρικών κυττάρων και επίδρασης αραχιδονικού οξέος (Noel J et al, 2009).

Μελέτες με χρήση ινιδίων von Frey έδειξαν ότι πειραματόζωα με γενετική έλλειψη του TREK-1 (TREK-1^{-/-}) παρουσίαζαν ευαισθησία σε πολύ μικρότερης έντασης μηχανικά ερεθίσματα. Η αλλοδυνία των πειραματοζώων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ωστόσο, δεν επιβεβαιωνόταν για υψηλότερης έντασης ερεθίσματα, στα οποία οι δύο ομάδες ποντικών επεδείκνυν όμοια συμπεριφορά και αντίδραση. Οι συγγραφείς καταλήγουν ότι ενώ τα κανάλια TREK-1 και TRAAK διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην αλγαισθησία, η συμβολή τους στην αλλοδυνία πιθανά περιορίζεται σε χαμηλής έντασης μηχανικά (και θερμικά) ερεθίσματα (Alloui A et al, 2006).

ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΩΝΤΑΣ ΤΟΝ ΑΛΓΟΥΪΠΟΔΟΧΕΑ: ΧΗΜΙΚΑ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΑ

Χημειο-αλγαισθησία είναι η διαδικασία με την οποία πρωτοπαθείς κεντρομόλοι νευρώνες ανιχνεύουν περιβαλλοντικές ερεθισματογωγές ουσίες και ενδογενείς παράγοντες που παράγονται στα πλαίσια στρεσογόνων για τον οργανισμό συμβάντων, με τελικό αποτέλεσμα την πρόκληση πόνου και τη διατήρηση της ομοιόστασης. Σε αυτή τη διαδικασία, τα κανάλια της TRP οικογένειας υποδοχέων διαδραματίζουν -και εδώ- κυρίαρχο ρόλο, γεγονός αναμενόμενο με δεδομένη την ευαισθησία των καναλιών αυτών σε φυτικές ερεθιστικές ουσίες, όπως η καψαϊκίνη (TRPV1), μενθόλη (TRPM8), και τα καυστικά συστατικά μουστάρδας και σκόρδου isothiocyanates και thiosulfates (TRPA1) (Bandell et al, 2004, Jordt et al, 2004).

Το κανάλι TRPA1 συνιστά μέλος της οικογένειας υποδοχέων χημειο-αλγαισθησίας με ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Αντιδρά σε ποικιλία χημικών ουσιών με διαφορετική δομή, αλλά

κοινή ιδιότητα το σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών με θεικές ομάδες στην αμινοτελική (κυτταροπλασματική) περιοχή του (Hinman et al, 2006, Macpherson et al, 2007). Αν και δεν είναι εντελώς σαφές με ποιο τρόπο η σύνδεση αυτή επάγει τη μεταγωγή του ερεθίσματος, ωστόσο η ιδιότητα του TRPA1 να εντοπίζει μέσω ομοιοπολικών συνδέσεων ποικιλία χημικών ερεθισμάτων τού προσδίδει σημαντικό ρόλο στην περιφερική αλγαισθησία από χημικές ουσίες.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η δράση της ακρολεΐνης, πτητικής α,β-ακόρεστης αλδεϋδης, που ανευρίσκεται στα δακρυγόνα αέρια, καυσαέρια οχημάτων και σε προϊόντα καύσης δέντρων και τσιγάρων. Η ακρολεΐνη, όπως και άλλες πτητικές ερεθιστικές ουσίες (hypochlorite, hydrogen peroxide, formalin, isocyanates) ενεργοποιούν αισθητικούς νευρώνες σε οφθαλμούς και αεροφόρες οδούς προκαλώντας πόνο και φλεγμονή (Bessac and Jordt 2008, Caceres et al, 2009). Η δράση αυτή μπορεί να έχει ιδιαίτερα σημαντικές επιπτώσεις σε πάσχοντες από άσθμα, χρόνια βήχα ή άλλες αναπνευστικές διαταραχές. Μελέτες σε γενετικά τροποποιημένα πειραματόζωα, με έλλειψη του TRPA1, επιδεικνύουν σημαντικά μικρότερη ευαισθητοποίηση σε αυτούς τους παράγοντες, τονίζοντας τη σπουδαιότητα του καναλιού ως αισθητικού υποδοχέα περιβαλλοντικών ερεθιστικών ουσιών (Caceres et al, 2009). Επιπρόσθετα, ο TRPA1 ενεργοποιείται μετά από χορήγηση φαρμάκων αναισθησιολογικής χρήσης (όπως το ισοφλουράνιο) ή από μεταβολικά παραπροϊόντα κυτταροστατικών παραγόντων (όπως η κυκλοφωσφamide), κάτι που ενδεχομένως να ευθύνεται για κάποιες από τις ανεπιθύμητες δράσεις που παρατηρούνται σε αυτές τις περιπτώσεις, όπως ο πόνος και η νευρογενής φλεγμονή (Bautista et al 2006, Matta et al, 2008).

Χημικές ερεθιστικές ουσίες και αλγογόνοι παράγοντες είναι γνωστό ότι παράγονται σε περιβάλλον ιστικής βλάβης και οξειδωτικού στρες. Τέτοιοι παράγοντες, μόνοι ή σε συνδυασμό μεταξύ τους, ευαισθητοποιούν αλγοϋποδοχείς θερμικών ή/και μηχανικών ερεθισμάτων με το να μειώνουν σημαντικά την ουδό ενεργοποίησής τους. Το αποτέλεσμα αυτής της δράσης είναι η ανάπτυξη συμπεριφοράς και αντίδρασης από τον οργανισμό, προστατευτική της περιοχής που υπέστη την κάκωση. Παράλληλα, με αυτόν τον τρόπο, αποφεύγεται η συνεχής διέγερση του νευρικού συστήματος που μπορεί να οδηγήσει στη μετάπτωση του οξέος σε χρόνια πόνο.

ΧΗΜΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Σε περιβάλλον φλεγμονής, συμπεριλαμβανομένης της ιστικής κάκωσης, παρατηρούνται μεταβολές στις συγκεντρώσεις μορίων και ουσιών εγγύς της νευρικής ίνας, που προκαλούν την εκφόρτιση και ευαισθητοποίησή της (δηλαδή την μείωση ουδού εκφόρτισης, προκειμένου αυτή να συντελεστεί πιο εύκολα και πιο παρατεταμένα). Στις συνθήκες αυτές, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν ενδογενείς παράγοντες, που απελευθερώνονται από ενεργοποιημένες αλγογόνες νευρικές απολήξεις ή μη νευρικά κύτταρα που είναι ήδη εγκατεστημένα ή μεταναστεύουν εκεί στα πλαίσια της φλεγμονής (μαστοκύτταρα, βασεόφιλα, αιμοπετάλια, μακροφάγα, ουδετερόφιλα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες κα). Συνολικά οι παράγοντες που συνιστούν το χημικό περιβάλλον της φλεγμονής αναφέρονται και ως “φλεγμονώδης σούπα”. Είναι σημαντικό να τονιστεί η ιδιότητα των νευρικών κυττάρων που φέρουν ελεύθερες απολήξεις για τον πόνο να δρουν και ως κύτταρα με παρακρινή δράση, αφού παράγουν ενδογενείς συνδέτες που μεταφέρονται κατά μήκος του νευράξονα στα περιφερικά άκρα αυτού, εκκρίνονται στο μικροπεριβάλλον της νευρικής απόληξης και ευαισθητοποιούν παρακείμενους αλγοϋποδοχείς. Το ερέθισμα για την εκκριτική δράση των νευρικών κυττάρων -που είναι η βάση της “νευρογενούς φλεγμονής”- είναι το δυναμικό ενεργείας του ενεργοποιημένου νευρώνα, το οποίο δεν άγεται μόνο στο κεντρικό νευρικό σύστημα, αλλά και φυγόκεντρα, συντελώντας στην απελευθέρωση των νευροπεπτιδίων.

Η φλεγμονώδης “σούπα” αποτελείται από ευρύ φάσμα σηματοδοτικών μορίων όπως νευροδιαβιβαστές, πεπτίδια (ουσία P, CGRP, βραδυκινίνη), εικοσανοειδή και σχετικά με αυτά λιπίδια (προσταγλανδίνες, θρομβοξάνια, λευκοτριένια, ενδοκανναβινοειδή), neurotrophins, κυτταροκίνες, χημειοκίνες, εξωκυττάρια πρωτεάσες, πρωτόνια κα (McMahon et al, 2008).

Η βραδυκινίνη είναι ενδιάμεσο προϊόν του συστήματος πήξης του Hageman, με ρόλο στην αλγαισθησία την ενίσχυση της αγγειακής διαπερατότητας και την ενεργοποίηση αλγοϋποδοχέων, η δράση της δε, ενισχύεται από την παρουσία προσταγλανδινών. Οι προσταγλανδίνες, ως γνωστό, παράγονται από τη δράση της φωσφολιπάσης A στα λιπίδια κυτταρικών μεμβρανών, με ενδιάμεσο μόριο το αραχιδονικό οξύ, ενώ η φωσφολιπάση A διεγείρεται από ενδογενή χημικά όπως οι κατεχολαμίνες και το τραύμα. Οι προσταγλανδίνες, σε αντίθεση με τη βραδυκινίνη, ακετυλοχολίνη και ιόντα καλίου, δε δρουν απευθείας στην ενεργοποίηση των αλγοϋποδοχέων, είναι όμως πολύ αποτελεσματικές στην ευαισθητοποίησή τους σε άλλα μόρια.

Η ουσία P είναι ιδιαίτερα σημαντικός συνδέτης στη νευροφυσιολογία του πόνου. Πρόκειται για αγγειοδραστικό νευροπεπτίδιο που προκαλεί τοπικά αγγειοδιαστολή και εξαγγείωση πλάσματος. Απελευθερώνεται από ελεύθερες νευρικές απολήξεις πόνου στην περιοχή της φλεγμονής και διεγείρει περαιτέρω έκκριση βραδυκινίνης. Διεγείρει επίσης απελευθέρωση ισταμίνης από μαστοκύτταρα και σεροτονίνης από αιμοπετάλια (*Phillips WJ et al, 2004*). Γνωστές αναλγητικές ουσίες, όπως η νιμεσουλίδη και η παρακεταμόλη, φαίνεται πως δρουν και μέσω αναστολής αυτού του πεπτιδίου (*Vellani V et al, 2011*).

Τα κανάλια των νευρικών απολήξεων εμφανίζουν μεγάλη ειδικότητα για μια ή δύο χημικές ουσίες του φλεγμονώδους περιβάλλοντος, δίνοντας έτσι την εικόνα ότι για το πλήθος των σηματοδοτικών μορίων υπάρχει ανάλογη ποικιλία διαμεμβρανικών καναλιών στην επιφάνεια των νευρικών απολήξεων του πόνου. Η αλληλεπίδραση μορίου-υποδοχέα ευθύνεται όχι μόνο για τη δημιουργία αλγογόνου νευρικής ώσης, αλλά και για την ενίσχυση ευερεθιστότητας της νευρικής ίνας και αύξηση ευαισθησίας της σε θερμικά ή μηχανικά ερεθίσματα, δίνοντας γένεση στα φαινόμενα υπερευαισθησίας και αλλοδυνίας που παρατηρούμε κλινικά στην πάσχουσα περιοχή.

Ο πιο δόκιμος τρόπος να μειωθεί ο φλεγμονώδης πόνος είναι η αναστολή σύνθεσης κάποιων από τα μόρια που συγκεντρώνονται στη “φλεγμονώδη σούπα”, κάτι το οποίο κλινικά φαίνεται από τη δράση των μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων, που καταστέλλουν τον πόνο και υπεραλγησία, μέσω αναστολής κυκλοοξυγονασών 1 και 2. Ένας δεύτερος τρόπος προσέγγισης του προβλήματος του πόνου θα ήταν η αναστολή επίδρασης των μορίων στους υποδοχείς των ελεύθερων νευρικών απολήξεων και προς αυτήν την κατεύθυνση αξίζει μια αδρή αναφορά στον NGF και τις κυτταροκίνες IL-1β, IL-6 και TNF-α.

Ο NGF (Nerve Growth Factor) είναι καλύτερα γνωστός για το ρόλο του ως νευροτροφικός παράγων, που απαιτείται για την επιβίωση και ανάπτυξη αισθητικών νευρώνων κατά την εμβρυογένεση. Στους ενήλικες ωστόσο, παράγεται κατόπιν ιστικής κάκωσης και συνιστά σημαντική συνιστώσα της “φλεγμονώδους σούπας” (*Rittner et al, 2009*). Μεταξύ των διαφόρων κυττάρων-στόχων, ο NGF είναι γνωστό ότι δρα στις πεπτιδεργικές C νευρικές ίνες, οι οποίες εκφράζουν τον υψηλής συγγένειας για τον NGF υποδοχέα κινάση τυροσίνης, TrKA, όπως επίσης και το νευροτροφικό υποδοχέα p75 (*Chao 2003, Snider και McMahon 1998*). Ο NGF προκαλεί σημαντική υπερευαισθησία σε θερμικά και μηχανικά ερεθίσματα μέσω δύο μηχανισμών: η αλληλεπίδρασή του με τον υποδοχέα TrKA ενεργοποιεί ένα ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι, που περιλαμβάνει

τη φωσφολιπάση C (PLC), την πρωτεϊνική κινάση MAPK, την phosphoinositide 3-kinase (PI3K). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της λειτουργικότητας της αλγογόνου νευρικής ίνας προς την κατεύθυνση παραγωγής διαμεμβρανικών καναλιών, όπως ο TRPV1, και της σημαντικής ευαισθητοποίησής της στα θερμικά ερεθίσματα (*Chuang et al, 2001*). Επιπρόσθετα, ο NGF μεταφερόμενος στον πυρήνα του πρωτοπαθούς αισθητικού νευρώνα προάγει την αυξημένη έκφραση πρωτεϊνικών μορίων, όπως η ουσία P και δομικά συστατικά των TRPV1 και Nav1.8 καναλιών (*Ji et al, 2002*). Σε σύμπραξη, οι αλλαγές αυτές στη γονιδιακή έκφραση του αισθητικού νευρώνα ενισχύουν την αντίδραση του αλγοϋποδοχέα στο φλεγμονώδες περιβάλλον.

Εκτός από τους νευροτροφικούς παράγοντες, η ιστική βλάβη επάγει την απελευθέρωση πολυάριθμων κυτταροκινών και κυρίως της IL-1 β , IL-6 και TNF- α (*Rittner et al, 2009*). Αν και υπάρχουν ενδείξεις απευθείας επίδρασης των εν λόγω κυτταροκινών στους αλγοϋποδοχείς, η κύρια συμβολή τους στην υπερευαισθησία και τον πόνο φαίνεται πως είναι έμμεση, μέσω επαγωγής της φλεγμονώδους διεργασίας και παραγωγής προφλεγμονωδών παραγόντων (όπως προσταγλανδίνες, NGF, βραδυκίνη και οξυντικό φορτίο).

Ανεξάρτητα από τον τρόπο δράσης τους, η συμβολή των παραπάνω μορίων στον πόνο είναι σημαντική και η παρεμβολή σε κάποιο από τα στάδια μετάδοσης του σήματος συνιστά σήμερα κύρια στρατηγική ελέγχου της φλεγμονώδους διεργασίας και του πόνου που αυτή συνεπάγεται. Η θεραπευτική προσέγγιση που ακολουθείται είναι ο φαρμακευτικός αποκλεισμός της δράσης των NGF ή TNF- α με τη χρήση κατάλληλου αντισώματος. Στην περίπτωση του TNF- α κάτι τέτοιο είχε σημαντικά θεραπευτικά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση πλειάδας αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, οδηγώντας σε ύφεση τόσο την ιστική καταστροφή όσο και τη συμπτωματολογία της νόσου και κυρίως τον πόνο που η νόσος συνεπάγεται (*Atzeni et al, 2005*).

ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ “ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΣΟΥΠΑΣ”-TRPV1

Είναι γνωστό πλέον ότι όταν μια περιοχή φλεγμαίνει ή κατόπιν έγχυσης συστατικών της φλεγμονώδους “σούπας” σε ιστούς (πχ βραδυκίνη ή NGF), παρατηρείται σημαντική υπερευαισθησία σε θερμικά ερεθίσματα. Η έλλειψη, σε σημαντικό βαθμό, της υπερευαισθησίας αυτής σε πειραματόζωα με έλλειψη του TRPV1 αναδεικνύουν το

συγκεκριμένο κανάλι σε σημαντικό “στόχο” του φλεγμονώδους υποστρώματος (*Davis et al, 2000*). Οι ενδοκυττάριοι μηχανισμοί, υπεύθυνοι για την εμφάνιση αλλοδυνίας και υπερευαισθησίας, περιλαμβάνουν την κατάτμηση της διαμεμβρανικής 4,5 διφωσφονικής φωσφατιδυλινοσιτόλης (PIP2) με τη μεσολάβηση της φωσφολιπάσης C (PLC), αυξημένα ενδοκυττάρια επίπεδα διακυλ-γλυκερόλης και ασβεστίου και επακόλουθη ενεργοποίηση πρωτεϊνικών κινασών. Ως αποτέλεσμα παρατηρείται μείωση της ουδού ενεργοποίησης του καναλιού σε θερμικά ερεθίσματα και αύξηση του βαθμού διέγερσής του (*Honore et al, 2009*).

ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ “ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΣΟΥΠΑΣ”-TRPA1

Όπως περιγράφηκε παραπάνω, ο TRPA1 ενεργοποιείται από στοιχεία που σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με κατάλοιπα κυστεΐνης. Μεταξύ των αγωνιστών για τους TRPA1 περιλαμβάνονται αρνητικά φορτισμένες ομάδες θειόλης, που παράγονται σε ιστική βλάβη και οξειδωτικό στρες (κυρίως α,β ακόρεστες αλδεΐδες προερχόμενες από υπεροξειδωση και αφυδάτωση δευτερογενών αγγελιαφόρων όπως η διφωσφονική φωσφατιδυλινοσιτόλη και η διακυλ-γλυκερόλη, *Anderson et al 2008, Trevisami et al, 2007*). Άλλοι ενδογενείς αγωνιστές των καναλιών TRPA1 περιλαμβάνουν το νιτρολεϊκό οξύ, υπεροξειδίο υδρογόνου, σουλφίδια υδρογόνου κα. Η ενεργοποίηση των TRPA1 επίσης ελέγχεται από προ-αλγογόνους παράγοντες όπως η βραδυκινίνη, όπως δείχνουν μελέτες σε πειραματόζωα με έλλειψη των καναλιών, στα οποία παρατηρείται σημαντικά μειωμένη συμπεριφοριολογική αντίδραση στους παραπάνω παράγοντες, καθώς επίσης σημαντική μείωση στην προκαλούμενη από τη βλάβη υπερευαισθησία (*Kwan et al, 2006*).

**ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ : Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ β -ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΟ
ΠΟΝΟ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΗ ΔΡΑΣΗ
ΤΗΣ**

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η β-ενδορφίνη είναι ενδογενής μορφινειδής ορμόνη που παράγεται και αποθηκεύεται κυρίως στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Το 1979, οι Roberts και συν και Nakanishi και συν, ανεξάρτητα η μία ομάδα από την άλλη, ανακάλυψαν το γονίδιο υπεύθυνο για την προοπιομελανοκορτίνη, το MB 39 kd πρόδρομο μόριο της β-ενδορφίνης και πλειάδας άλλων δραστικών νευροπεπτιδίων, συμπεριλαμβανομένων της β-λιποτροπίνης, φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης (ACTH) και ορμόνης ενεργοποίησης μελανοκυττάρων (MSH).

Οι συγκεντρώσεις της προοπιομελανοκορτίνης (POMC) παρουσιάζουν διακυμάνσεις κατά το 24ωρο, με τις μεγαλύτερες τιμές αυτής να παρατηρούνται τις πρωινές ώρες. Η παραγωγή της διεγείρεται κύρια από τον παράγοντα απελευθέρωσης κορτικοτροπίνης (CRF), ο οποίος με τη σειρά του παράγεται στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου και μεταφέρεται στην υπόφυση μέσω πυλαίων φλεβιδίων αυτής. Η απελευθέρωσή του ευοδώνεται από ουσίες όπως η ακετυλχολίνη και η 5-υδροξυτρυπταμίνη, ενώ η επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη δρουν τόσο μέσω διέγερσης του CRF, όσο και μέσω διέγερσης της ίδιας της υπόφυσης, μέσω αδρενεργικών υποδοχέων.

Η β-ενδορφίνη απελευθερώνεται σε αυξημένες συγκεντρώσεις υπό την επίδραση ουσιών όπως το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο, αγγειοτενσίνη, χολοκυστοκίνη και κυτταροκίνες, ενώ το στρες επίσης αυξάνει τις συγκεντρώσεις της στο πλάσμα μέσω αυξημένης γλυκοκορτικοειδούς απόδοσης και αδρενεργικής διέγερσης του υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα. Δρα κατασταλτικά του πόνου, με ισχύ 20-33 φορές μεγαλύτερη της μορφίνης. Στο περιφερικό νευρικό σύστημα παράγει αναλγησία μέσω σύνδεσής της με τους αντίστοιχους υποδοχείς, κυρίως σε προσυναπτικό επίπεδο. Η σύνδεση αυτή δίνει έναυσμα σε καταρράκτη αντιδράσεων, που οδηγεί σε αναστολή απελευθέρωσης ταχυκινινών, ιδίως ουσίας P, σημαντικού διαβιβαστή του αλγογόνου ερεθίσματος. Στο κεντρικό νευρικό σύστημα η σύνδεση της β-ενδορφίνης με τους υποδοχείς της αναστέλλει την απελευθέρωση του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA), προκαλώντας πλεόνασμα στην έκκριση ντοπαμίνης, που σχετίζεται με αίσθημα ευεξίας και αναλγησία (*Spruce-Blum AS et al, 2010*).

Η αντίληψη και καταστολή του πόνου, “παραδοσιακά” αποδίδεται στη λειτουργία και διασύνδεση νευρωνικών κυκλωμάτων. Η παραγόμενη από τα λευκά αιμοσφαίρια β-ενδορφίνη στην περιοχή της βλάβης όμως αμφισβητεί το “δόγμα” αυτό, ενώ είναι ενδεικτική της συμβολής των ανοσολογικών μηχανισμών στην αντιμετώπιση του πόνου. Πλέον, ολοένα αυξανόμενος αριθμός μελετών συμπεραίνει ότι η αναλγησία επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπίδρασης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος με το περιφερικό νευρικό, σε έδαφος φλεγμονής (*Machelska H and Stein C, 2002*).

Εκτός του ρόλου της στο στρες και στον πόνο, η β-ενδορφίνη μελετήθηκε από πολύ νωρίς ως ρυθμιστική του συναισθήματος ορμόνη, με τη βιβλιογραφία να βρίθει αναφορών που συσχετίζουν τα επίπεδά της στο αίμα ή ENY με την ύπαρξη και τη βαρύτητα διαφόρων ψυχιατρικών διαταραχών, πχ σχιζοφρένεια, νευρογενής ανορεξία κα (*Pickar D et al, Biol Psychiatry 1982*).

Ο ρόλος της χειρουργικής επέμβασης ως έντονου σωματικού και ψυχικού στρεσογόνου ερεθίσματος καθιστά τις διάφορες ομάδες χειρουργικών ασθενών ενδιαφέροντες υποψηφίους για τη μελέτη διακύμανσης β-ενδορφίνης σε σχέση με το στρες. Επιπρόσθετα, αποτελούν οι ασθενείς αυτοί το πλαίσιο μελέτης και συγκριτικής ανάλυσης της β-ενδορφίνης με τον πόνο, χρησιμοποιώντας διάφορες κλίμακες βαθμολόγησής του ή εκτιμώντας την κατανάλωση αναλγητικών μετεγχειρητικά.

Η ανασκόπηση της επίδρασης των ενδογενών οπιοειδών στη διάθεση και το συναίσθημα του ατόμου ξεφεύγει από τα όρια του παρόντος έργου, του οποίου στόχος είναι να καταδείξει τα ευρήματα της βιβλιογραφίας σε σχέση με την επίδραση της β-ενδορφίνης στο μετεγχειρητικό πόνο και κατά πόσο αυτά δικαιολογούν το χαρακτηρισμό του ενδογενούς αναλγητικού για τη β-ενδορφίνη. Επιπλέον, να καταγράψει τα ευρήματα της βιβλιογραφίας σχετικά με το ρόλο του ανοσοποιητικού συστήματος στη σύνθεση, έκκριση και δράση της β-ενδορφίνης. Στο βαθμό που γνωρίζουμε, είναι η πρώτη προσπάθεια συστηματικής καταγραφής της βιβλιογραφίας για ανάδειξη του ρόλου της β-ενδορφίνης ως ενδογενούς αναλγητικής ουσίας, στους χειρουργημένους ασθενείς.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Έγινε ανασκόπηση βιβλιογραφίας από τις εξής μηχανές αναζήτησης : MEDLINE, Cochrane Library (Cochrane Database of Systematic Reviews, Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness, Cochrane Central Register of Controlled Trials), TRIP database, the UK National Research Register, Embase, Scopus, CINAHL, Google Scholar, the Current Controlled Trials web site. Αναζητήθηκαν εργασίες γραμμένες στα Αγγλικά, που περιείχαν τις λέξεις-κλειδιά: β-endorphin postoperative pain. Ακολούθησε πρώτος έλεγχος των μελετών που ικανοποιούσαν τους παραπάνω περιορισμούς. Στη συνέχεια μελετήθηκαν τα σχετικά με αυτές άρθρα (related articles) καθώς και η βιβλιογραφία στο τέλος της κάθε μελέτης. Λόγω της περιορισμένης βιβλιογραφίας πάνω στη σύνδεση της β ενδορφίνης με το μετεγχειρητικό πόνο δεν έγινε περαιτέρω διαχωρισμός των εργασιών ανάλογα με τη σχεδίαση.

ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ

Τα οπιοειδή χρησιμοποιούνται στην Ιατρική από το 2ο μΧ αιώνα τουλάχιστον, όταν ο Γαληνός χορηγούσε όπιο στους ασθενείς του για ανακούφιση από τον πόνο. Το όπιο είναι εκχύλισμα της παπαρούνας *Papaver Somniferum* (μήκων η υπνοφόρος), η απομόνωση δε από το φυτό αυτό ενός αλκαλοειδούς το 1806 έδωσε γένεση στη μορφίνη (από το Μορφέα, θεό των ονείρων, εικ 6).



εικ6: λιθογραφία του Γαληνού, 16ος αιώνας. Φωτογραφία άνθους μήκωνος υπνοφόρου

Η μορφίνη έχει ισχυρή αναλγητική δράση σε περιπτώσεις οξέος και χρόνιου φλεγμονώδους πόνου, που υπολείπεται ωστόσο στην αντιμετώπιση του νευροπαθητικού πόνου. Παράλληλα, αποτελεί την πρωτότυπη ουσία για την ανάπτυξη μια σειράς οπιοειδών φαρμάκων, που χρησιμοποιούνται κατά κόρον στην κλινική πράξη.

Η δράση των οπιοειδών μιμείται τη δράση των ενδογενών οπιοειδών πεπτιδίων που υπάρχουν σε κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα με δράση νευροδιαβιβαστική και νευρορρυθμιστική. Όπως και τα εξωγενή αντίστοιχά τους, τα ενδογενή οπιοειδή πιστεύεται ότι παρέχουν ισχυρή αναλγητική δράση μέσω σύνδεσής τους με τους αντίστοιχους

υποδοχείς, χωρίς ωστόσο να επιδεικνύουν τις παρενέργειές τους (καταστολή αναπνευστικού, δυσκοιλιότητα και λοιπές διαταραχές από το γαστρεντερικό, ανάπτυξη αντοχής).

Το “σύστημα” των ενδογενών οπιοειδών είναι ένα περίπλοκο σύστημα νευρώνων και ουσιών του κεντρικού και περιφερικού συστήματος με αναλγητικές και τροποποιητικές των αλγογόνων ερεθισμάτων ιδιότητες. Κάποια μέλη του συστήματος, όπως νευρώνες που απελευθερώνουν νορεπινεφρίνη και σεροτονίνη, έχουν κυτταρικά σώματα σε συγκεκριμένους πυρήνες του εγκεφαλικού στελέχους με μακρούς νευράξονες που προβάλλουν τη δράση των ουσιών αυτών σε πολλαπλές περιοχές εγκεφάλου και νωτιαίου μυελού. Από την άλλη μεριά, τα ενδογενή οπιοειδή παράγονται από νευρώνες διασκορπισμένους στο νευρικό σύστημα και δράση που προβάλλει άλλοτε σε βραχύτερα και άλλοτε σε ευρύτερα νευρωνικά κυκλώματα.

Οι τρεις κυριότερες ομάδες ενδογενών οπιοειδών που έχουν αναγνωριστεί είναι η μεθειονίνη-εγκεφαλίνη και η λευκίνη-εγκεφαλίνη, προερχόμενες από την προεγκεφαλίνη, οι δυνορφίνες που παράγονται από τις προδυνορφίνες και οι ενδορφίνες, με κυριότερο και ισχυρότερο εκπρόσωπο τη β-ενδορφίνη. Η δράση τους παρατηρείται στο επίπεδο των περιφερικών νευρών, των οπίσθιων κεράτων του νωτιαίου μυελού, όπου οι πληροφορίες για τον πόνο συντείνουν, και στο επίπεδο του εγκεφάλου, όπου τελείται η επεξεργασία των πληροφοριών του πόνου και η αποστολή φυγόκεντρων, ανατροφοδοτικών μηνυμάτων. (Holden JE, et al, 2005)

Η β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΝΑΛΓΗΣΙΑΣ

Η β-ενδορφίνη είναι ενδογενές μόριο με χημικές ιδιότητες μορφίνης και δράση 20-33 φορές πιο ισχυρή. Παράγεται κυρίως στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης από το πρόδρομο μόριο της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC). Το 1979 αναγνωρίστηκε το γονίδιο υπεύθυνο για την POMC, από την οποία προέρχονται επίσης και πλειάδα άλλων ορμονών. Ο διεγερτικός παράγων για την έκλυση προ-οπιομελανοκορτίνης είναι ο CRF (corticotropin releasing factor), που παράγεται στον παρακοιλιακό πυρήνα του

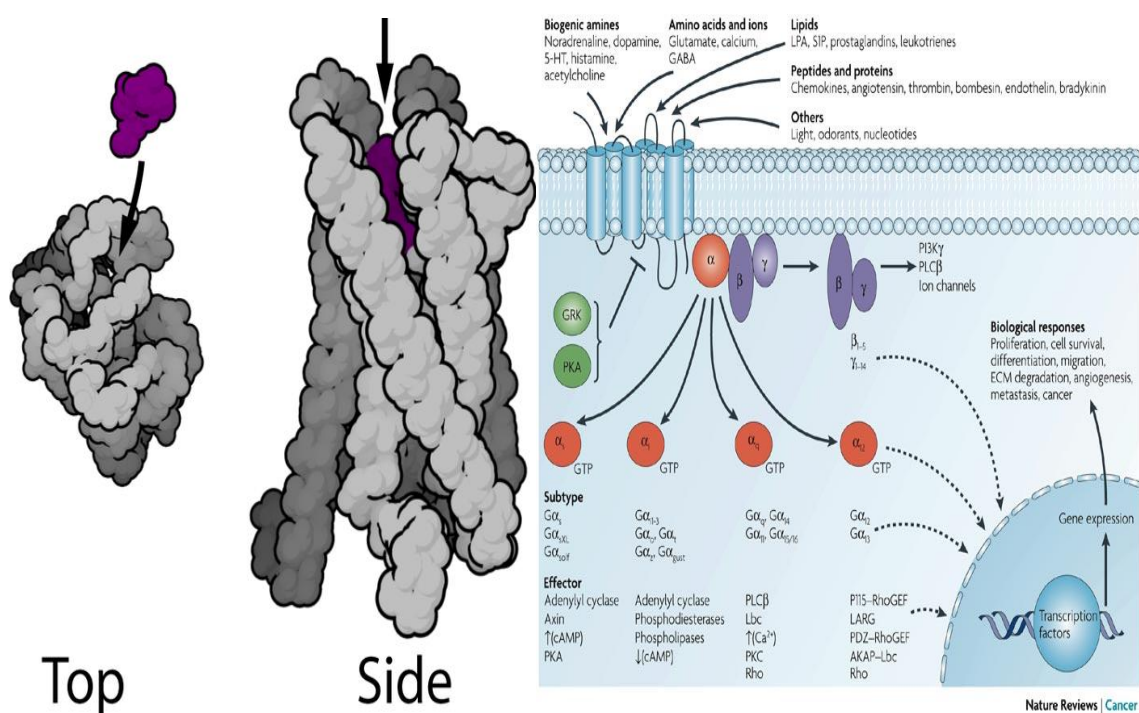
υποθαλάμου. Η έκλυση του CRF διεγείρεται από διάφορες ουσίες, όπως ακετυλοχολίνη, 5-υδροξυτρυπταμίνη, επινεφρίνη και νορεπινεφρίνη, αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο, αγγειοτενσίνη II και χολοκυστοκίνη.

Κύτταρα που παράγουν POMC εμφανίζουν ευρεία κατανομή στο κεντρικό νευρικό σύστημα και σε περιφερικούς ιστούς. Στον εγκέφαλο τέτοια κύτταρα ανευρίσκονται σε πυρήνες του υποθαλάμου, μεταχιακό σύστημα, μέσο εγκέφαλο, φαιά ουσία πέριξ του υδραγωγού του Sylvius και αλλού, περιοχές δηλαδή ζωτικές για το σύστημα αλγαισθησίας και τη γνωστική επεξεργασία του πόνου. Επίσης ανευρίσκεται στην πηκτωματώδη ουσία του νωτιαίου μυελού, περιοχή με ρυθμιστική δράση στο αυτόνομο νευρικό σύστημα. Στους περιφερικούς ιστούς κύτταρα που παράγουν προ-οπιομελανοκορτίνη ανευρίσκονται στις γονάδες, θυρεοειδή αδένες, πάγκρεας, γαστρεντερικό σωλήνα και βεβαίως σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, υποδηλώνοντας έτσι το σημαντικό ρόλο της β-ενδορφίνης όχι μόνο στην αλγαισθησία αλλά και ως ρυθμιστικό μόριο ενδοκρινούς, αυτόνομης και ανοσοποιητικής λειτουργίας. (Hartwig A et al, 1991)

Η προ-οπιομελανοκορτίνη είναι γλυκοπρωτεΐνη 38 Kdalton που, όπως όλα τα πρόδρομα μόρια, δε διαθέτει βιολογική δραστηριότητα. Μια σειρά περίπλοκων και αλληπάλληλων πρωτεολυτικών διασπάσεων δίνουν γένεση στη β-ενδορφίνη, φλοιοεπινεφριδιοτρόπο ορμόνη (ACTH), μελανινοτρόπο ορμόνη (α-MSH) και β-λιποτροπίνη (β-LPH). Από την αρχική πρωτεολυτική διάσπαση προκύπτουν η β-LPH και η ACTH 21-23 KD, που εμπεριέχει τα μόρια N-POMC και ACTH (1-39). Με τη σειρά της η β-LPH διασπάται περαιτέρω σε γ-LPH και β-ενδορφίνη (1-31), ενώ η κατάτμηση των 21-23 KD μορίου ACTH δίνει το γλυκοπεπτίδιο των 16 KD N-POMC και την ACTH (1-39). Σε κάποιους ιστούς η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία προς α-MSH, ενώ το γλυκοπεπτίδιο N-POMC προς γ-MSH και N-POMC (1-49). Σε κύτταρα ιστών πάλι, η β-ενδορφίνη υφίσταται α-N-ακετυλίωση ή/και διάσπαση προς ακετυλιωμένες και μη ακετυλιωμένες μορφές, β-ενδορφίνη (1-27) και β-ενδορφίνη (1-26), βιολογικά ανενεργείς. (Y Peng Loh, 1992)

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ

Όπως ισχύει με όλους τους συνδέτες, εξωγενείς ή ενδογενείς, τα οπιοειδή ασκούν την επίδρασή τους μέσω σύνδεσής τους με υποδοχείς. Με χρήση κατάλληλων μεθόδων έχουν αναγνωριστεί και κλωνοποιηθεί τρεις κύριες ομάδες υποδοχέων οπιοειδών, οι μ , δ και κ . Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν στην οικογένεια των επτα-διαμεμβρανικών, συνδεόμενων με G πρωτεΐνες υποδοχέων (7 transmembrane spanning G-protein coupled receptors). Ασκούν ανασταλτική επίδραση στην αγωγή αλγογόνων ερεθισμάτων μέσω αναστολής καναλιών ασβεστίου ή/και ενεργοποίησης διαύλων καλίου (εικ7)



εικ 7: απεικόνιση στερεοχημικής δομής μ -υποδοχέα οπιοειδών και σχηματική αναπαράσταση δράσης ενός διαμεμβρανικού υποδοχέα που συνδέεται με G πρωτεΐνες και διαθέτει 7 διαμεμβρανικές περιοχές

Φαρμακολογικές και μοριακές μελέτες έχουν αναδείξει την ύπαρξη υποτύπων των υποδοχέων οπιοειδών. Με αυτές τις μεθόδους είναι σήμερα γνωστές οι υποκατηγορίες $\mu 1$,

μ2, μ3, δ1, δ2, δ3, κ1, κ2, κ3 των υποδοχέων, με τη σχετική έρευνα να βρίσκεται ακόμη σε εξέλιξη.

Οι διάφοροι υποτύποι φαίνεται να έχουν συγκεκριμένη εντόπιση που σχετίζεται με τη λειτουργία τους. Για παράδειγμα, οι μ1 υποδοχείς διαδραματίζουν ρόλο στην αναλγησία σε επίπεδο εγκεφάλου, ενώ οι μ2 ευθύνονται για την καταστολή λειτουργίας του αναπνευστικού και γαστρεντερικού συστήματος. Συνοπτικά, και με βάση τεχνικές μοριακής χαρτογράφησης, οι υποτύποι μ1, δ1 και κ3 εντοπίζονται σε επίπεδο άνωθεν νωτιαίου μυελού, οι μ2 σε επίπεδο νωτιαίου μυελού, ενώ οι δ2, κ1 και μ3 εντοπίζονται σε όλο το εύρος του ΚΝΣ. Ο εντοπισμός τους αφορά σε κυτταρικά σώματα, νευράξονες και δενδρίτες του ΚΝΣ, καθώς και στα κεντρικά άκρα των πρωτοπαθών νευρώνων, στα οπίσθια κέρατα του ΝΜ. (Hodlen JE, 2005).

Η β-ενδορφίνη είναι μη ειδικός αγωνιστής και των τριών τύπων υποδοχέων, κυρίως όμως των μ- και δ-, που εμφανίζουν παρόμοια χημική συγγένεια με την ενδογενή ουσία. Το 1997 ωστόσο απομονώθηκαν από τον εγκέφαλο πειραματοζώων δύο νέες ενδογενείς οπιοειδείς ουσίες, οι ενδομορφίνες-1 και -2, που εμφάνιζαν υψηλή ειδικότητα για τους μ- υποδοχείς. Τα πεπτίδια αυτά διαφέρουν δομικά από τα υπόλοιπα, γνωστά ενδογενή οπιοειδή (ενδορφίνες, εγκεφαλίνες και δυνορφίνες), κυρίως ως προς τον αριθμό καταλοίπων που απαρτίζουν την πεπτιδική αλυσίδα και την αμινοτελική ακολουθία αμινοξέων. Με βάση μελέτες χημικής συγγένειας των υποδοχέων, οι ενδομορφίνες φαίνεται πως εμφανίζουν τη μεγαλύτερη ειδικότητα με τους μ-υποδοχείς, από οποιαδήποτε άλλη ενδογενή οπιοειδή ουσία. Επιπλέον, μελέτες ραδιοανοσο- προσδιορισμού της ενδομορφίνης-1 κατέδειξαν όμοια κατανομή της στο ΚΝΣ με τους συγκεκριμένους υποδοχείς (θάλαμος, υποθάλαμος, φλοιός και ραβδωτό σώμα, Zadina J et al, 1997).

Μια άλλη ενδιαφέρουσα παρατήρηση που προέκυψε μέσα από τη χαρτογράφηση των υποδοχέων οπιοειδών στο ΚΝΣ και της δράσης των ενδογενών οπιοειδών για την επίτευξη αναλγητικού αποτελέσματος, ήταν και η μεγάλη αναντιστοιχία που υπήρχε μεταξύ της κατανομής της β-ενδορφίνης με τους μ- και δ υποδοχείς στο κεντρικό νευρικό σύστημα πειραματοζώων. Αυτό πρακτικά σήμαινε ότι για την επίτευξη αναλγησίας από τη δράση της συγκεκριμένης ενδογενούς ουσίας, σε αυτό το επίπεδο, δε συμμετείχαν οι γνωστές τρεις κατηγορίες υποδοχέων. Έρευνες σε απαγωγά αγγεία ποντικών, με χρήση [3H]β-ενδορφίνης, ανέδειξαν την ύπαρξη μιας νέας ομάδας υποδοχέων οπιοειδών, τους ε-

υποδοχείς, με μεγάλη ειδικότητα για τη β-ενδορφίνη. Οι ε-υποδοχείς έχουν ταυτοποιηθεί ως προϊόν έκφρασης του γονιδίου GPR7, αν και περισσότερες μελέτες πάνω στο θέμα λείπουν (O'Dowd BF et al, 1995). Άλλοι ερευνητές περιέγραψαν την παρουσία ε-υποδοχέων στον εγκέφαλο πειραματοζώων χρησιμοποιώντας ραδιογραφικές μεθόδους ανίχνευσης της ³H-β ενδορφίνης ως συνδέτης του υποδοχέα. Συγκεκριμένα, χορήγηση β-ενδορφίνης στις κοιλίες εγκεφάλου ποντικών, στους οποίους είχαν χορηγηθεί νωρίτερα ανταγωνιστές μ, δ και κ υποδοχέων, και έλεγχος αντίδρασής τους στον πόνο, ανέδειξαν την ύπαρξη αναλγητικής δράσης της β-ενδορφίνης (προφανώς μετά από σύνδεση με άλλο τύπο υποδοχέα, αφού υπήρχαν ανταγωνιστές για τους γνωστούς τρεις, μ, δ και κ). Αντίθετα, η αναλγητική αυτή δράση χανόταν όταν προ της χορήγησης β- ενδορφίνης, δινόταν ενδοκοιλιακά β-ενδορφίνη(1-27), γνωστού ανταγωνιστή υποδοχέων ε (Narita M and Tseng LF 1998, Tseng LF, 2001).

Η μορφίνη και τα άλλα εξωγενή οπιούχα επομένως, ασκούν τη δράση τους σε τρία επίπεδα: στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού, όπου οι αισθητικές πληροφορίες αναφορικά με τον πόνο συγκλείνουν, στον εγκέφαλο, όπου κέντρα ενδογενούς αναλγησίας προβάλλουν το αναλγητικό τους αποτέλεσμα στο νωτιαίο μυελό, και στα περιφερικά νεύρα υπό συγκεκριμένες συνθήκες.

ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΛΓΗΣΙΑΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990, αυξανόμενος όγκος επιστημονικών δεδομένων έκανε λόγο για ισχυρή αναλγητική δράση των οπιοειδών μέσω ενεργοποίησης αντίστοιχων υποδοχέων στα περιφερικά άκρα των αισθητικών νεύρων, δίνοντας περιεχόμενο στην έννοια “ενδογενές σύστημα αναλγησίας” (Stein C et al 1990,1993). Οι υποδοχείς αυτοί εντοπίζονται σε μικρής, μέσης και μεγάλης διαμέτρου αισθητικά νεύρα, τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους. Τα κυτταρικά σώματα αυτών των νευρώνων, στα ραχιαία αισθητικά γάγγλια και στο γάγγλιο του τριδύμου νεύρου, βρέθηκε να εκφράζουν mRNA και πρωτεΐνες των μ, δ, και κ υποδοχέων, οι οποίες στη συνέχεια μεταφέρονται στα περιφερικά τους άκρα (Stein C and Zollner C, 2009).

Μετά από σύνδεση κάποιου συνδέτη (οπιούχος ουσία) με τον αντίστοιχο υποδοχέα, στερεοχημικές μεταβολές του τελευταίου επιτρέπουν τη σύνδεσή του με G-πρωτεΐνες στο καρβοξυτελικό του άκρο. Ως αποτέλεσμα, αναστέλλεται η παραγωγή cAMP, ή -με ένα δεύτερο μηχανισμό- υπομονάδες G-πρωτεϊνών αλληλεπιδρούν με μόρια ασβεστίου, τον TRPV1 ή άλλα ιοντικά κανάλια. Με τον τρόπο αυτό, αγωνιστές οπιοειδών αυξάνουν την ουδό εκπόλωσης των αλγοϋποδοχέων και καταστέλουν την απελευθέρωση αλγογόνων νευροπεπτιδίων όπως ουσία P και CGRP από τα περιφερικά και κεντρικά άκρα των νευρικών ινών αγωγής πόνου. Σε συνθήκες ιστικής βλάβης και φλεγμονής, το τελικό αποτέλεσμα είναι αναλγητικό και αντιφλεγμονώδες.

Καταστάσεις φλεγμονής στους περιφερικούς ιστούς (ποικίλης διάρκειας) έχουν μελετηθεί επισταμένα ως καταλυτικοί παράγοντες της διεγερσιμότητας των υποδοχέων οπιοειδών στα αισθητικά νεύρα ενηλίκων. Τόσο η συστηματική, όσο και η τοπική εφαρμογή αγωνιστών μ , δ , και κ υποδοχέων προκαλεί εντονότερη αναλγητική επίδραση σε φλεγμαίνοντες απ'ό,τι σε υγιείς ιστούς ανθρώπων και ζώων.

Η περιφερική φλεγμονή επάγει ποικίλου βαθμού αύξηση σύνθεσης (upregulation) του mRNA και πρωτεϊνών υποδοχέων στα ραχιαία αισθητικά γάγγλια νευρώνων. Σε πειράματα με ποντίκια παρατηρήθηκε διφασική αύξηση σύνθεσης του mRNA για το μ -υποδοχέα στις 2 και 96 ώρες φλεγμονής. Αντίστοιχα, το mRNA των δ -υποδοχέων δεν επηρεάστηκε, ενώ των κ -υποδοχέων εμφάνισε αιχμή σύνθεσης στις 12 ώρες. Οι αυξήσεις που εντοπίστηκαν σχετίζονται όχι μόνο με την ηλεκτρική δραστηριότητα των νευρώνων, αλλά και με την παραγωγή κυτταροκινών στους φλεγμαίνοντες ιστούς, φαίνεται δε πως σχετίζεται με την επαγόμενη από τις κυτταροκίνες δέσμευση παραγόντων μεταγραφής σε περιοχές DNA που λειτουργούν ως υποκινητές (promoters) των γονιδίων έκφρασης υποδοχέων. Φλεγμονώδη ερεθίσματα μικρής διάρκειας (30 λεπτών) δεν επηρέασαν την έκφραση των υποδοχέων στα άκρα των αισθητικών νευρώνων, καθιστώντας έτσι σαφές ότι η έκφρασή τους εξαρτάται από το είδος του υποδοχέα αλλά και από τη διάρκεια εφαρμογής του ερεθίσματος, με τη συμβολή τους στην αναλγησία να εντοπίζεται σε όψιμα στάδια φλεγμονής.

Εκτός από την αυξημένη σύνθεση, κυτταροκίνες καθώς και αυξητικός παράγων νEURων, που επίσης παράγεται σε συνθήκες φλεγμονής, ευθύνονται για μεταφορά κατά μήκους του νευράξονα των δομικών στοιχείων των υποδοχέων οπιοειδών, επιτυγχάνοντας

αυξημένη πυκνότητα υποδοχέων στα άκρα ελεύθερων νευρικών απολήξεων πόνου (Hassan AHS, et al 1993)

Εκτός από την αυξημένη σύνθεση και μεταφορά πρωτεϊνών υποδοχέων οπιοειδών στα περιφερικά άκρα, η φλεγμονή φαίνεται πως επάγει τη δραστηριότητα των υποδοχέων αυτών και με άλλους τρόπους: μείωσης του ιστικού pH, με επακόλουθη αύξηση συγγενειάς τους με τις G-πρωτεΐνες και της αποτελεσματικότητάς τους στην αναστολή αγωγής αλγογόνου ερεθίσματος, βλάβη του περινεύριου που εσωκλείει τους υποδοχείς, με αποτέλεσμα πιο άμεση πρόσβασή τους στο περιβάλλον φλεγμονής, και αύξηση του αριθμού των ελεύθερων νευρικών απολήξεων που φέρουν υποδοχείς οπιοειδών και του αριθμού υποδοχέων ανά νευρική απόληξη, μια διαδικασία γνωστή ως “βλάστηση” (sprouting, *Stein C and Zollner, 2009; Stein C and Lang LJ, 2009*). Επιπλέον, ενεργοποίηση υποδοχέων βραδυκινίνης ή των TRPV1 έχει φανεί πως διεγείρουν τη μετακίνηση των δ υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη σε καλλιέργειες νευρώνων, κάτι που επίσης έχει ως τελικό αποτέλεσμα την καταστολή απελευθέρωσης CGRP και άθροισης cAMP.

Όλοι οι παραπάνω μηχανισμοί συμβάλλουν στην αυξημένη αναλγητική επίδραση των οπιοειδών στους φλεγμαίνοντες ιστούς. Στα αρχικά στάδια της φλεγμονώδους διεργασίας (διάστημα ωρών), τόσο οι κεντρικοί όσο και οι περιφερικοί υποδοχείς οπιοειδών συμβάλλουν στην αναλγησία. Σε όψιμα στάδια φλεγμονής όμως (πάροδος ημερών), η ενδογενής αναλγησία φαίνεται πως επιτυγχάνεται κυρίως μέσω των περιφερικών υποδοχέων. Επομένως, οι περιφερικοί μηχανισμοί οπιοειδούς αναλγησίας καθίστανται κυρίαρχοι με την πάροδο του χρόνου και τη βαρύτητα της φλεγμονής (*Machelska H et al, 2003*).

ΠΟΝΟΣ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η ανακάλυψη των υποδοχέων οπιοειδών στα περιφερικά άκρα των νευρικών απολήξεων και οι μηχανισμοί αγωγής αλγογόνου ερεθίσματος σε περιβάλλον φλεγμονής, έστρεψαν αναπόφευκτα το ερευνητικό ενδιαφέρον στους ενδογενείς συνδέτες τους και στον τρόπο που οι τελευταίοι φέρνουν σε αλληλεπίδραση το ανοσοποιητικό και

νευροενδοκρινές σύστημα, ιδίως σε φλεγμονώδεις καταστάσεις.

Πλέον είναι γνωστό ότι υφίσταται αλληλεπίδραση μεταξύ των παραπάνω συστημάτων στην αντιμετώπιση του φλεγμονώδους πόνου και ότι κάτι τέτοιο επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της β-ενδορφίνης, η οποία μετά από απελευθέρωση από κύτταρα ανοσοποιητικού επιτυγχάνει ισχυρή, κλινικά εμφανής αναλγησία (Stein C et al, 2003). Τα διαθέσιμα στοιχεία από σειρά μελετών αναδεικνύουν κοινή γονιδιακή καταβολή, κοινούς μηχανισμούς παραγωγής και -βέβαια- όμοια λειτουργικότητα ενδορφινών προερχόμενων από τα ανοσοποιητικά κύτταρα, βεβαιώνοντας έτσι για τον κοινό στόχο του ανοσοποιητικού και νευροενδοκρινούς συστήματος στην αντιμετώπιση του άλγους.

Σχεδόν 30 χρόνια πριν, έγινε σαφές ότι η ACTH, αναπόσπαστο μόριο του άξονα “υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια” και παράγωγο της προοπιομελανοκορτίνης, από την οποία προέρχεται επίσης και η β-ενδορφίνη, είναι ανιχνεύσιμη σε λεμφοκύτταρα και μακροφάγα. Τα λεμφοκύτταρα B και T εκφράζουν πρωτεΐνες υποδοχέων φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης στην επιφάνειά τους, ενώ η τελευταία φαίνεται πως ρυθμίζει λειτουργίες B λεμφοκυττάρων, όταν χορηγείται εξωγενώς. Τελευταία, η ορμόνη αυτή, όπως άλλωστε και η β-ενδορφίνη, έχουν εντοπιστεί και σε ανοσοκύτταρα στη συστηματική κυκλοφορία ανθρώπων, επιβεβαιώνοντας τα ευρήματα στα πειραματόζωα (Pallinger E et al, 2007).

Παρότι υπάρχουν πολυάριθμες μελέτες για την ύπαρξη mRNA της προοπιομελανοκορτίνης στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, πολύ λίγες κατάφεραν να δείξουν την ύπαρξη πλήρους μήκους αυτού του mRNA, καθώς και πλήρους ακολουθίας αμινοξέων του POMC, που να είναι πανομοιότυπα με τα αντίστοιχά τους στην υπόφυση. Οι Lyons PD και συν, με τη χρήση Western blotting και ειδικού αντισώματος κατά ACTH 1-24, ανέδειξαν α) την παρουσία μη γλυκοζυλιωμένης φλοιοεπινεφριδιοτρόπου (ACTH 1-39, 4,5KDalton), β) βιοσυνθετικού ενδιάμεσου μορίου της, 22KDalton και γ) πρωτεϊνικού μορίου POMC, σε εκχυλίσματα μονοπύρηνων κυττάρων σπληνός ποντικών, πανομοιότυπης ακολουθίας με των αντίστοιχων μορίων υποφυσιακής προέλευσης (Lyons PD, Blalock JE, 1997). Διέγερση των μονοπύρηνων κυττάρων από μιτογόνο (λιποπολυσακχαρίδη) οδηγούσε σε αύξηση επιπέδων των τριών παραπάνω μορίων.

Εκτός από την προοπιομελανοκορτίνη, σε B και T λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και

μαστοκύτταρα έχει εντοπιστεί το mRNA και το πρωτεϊνικό μόριο της προεγκεφαλίνης, πανομοιότυπης ακολουθίας σε κεντρικό νευρικό και ανοσοποιητικό σύστημα. Εξάλειψη του γονιδίου υπεύθυνου για την προεγκεφαλίνη οδήγησε σε εξαφάνιση επιπέδων met-εγκεφαλίνης, τόσο στον εγκέφαλο, όσο και στα T κύτταρα πειραματοζώων (*Machelska H, 2007*).

Άλλες μελέτες έδειξαν επίσης την παρουσία β-ενδορφίνης σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, η συγκέντρωση της οποίας αυξάνεται κατόπιν ενεργοποίησης των κυττάρων από μιτογόνα, ενώ προφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η IL-1β και ο CRF οδηγούν σε αυξημένη απελευθέρωσή της από τα κύτταρα αυτά. Σε μοντέλα ποντικών με εικόνα φλεγμονής, ύστερα από έγχυση φλεγμονωδών παραγόντων (Freund's complete adjuvant-induced inflammation of the hind paw), η απελευθέρωση β-ενδορφίνης μετά από επίδραση IL-1β και CRF ήταν δόσοεξαρτώμενη και ασβεστιο- και καλιο-εξαρτώμενη, υποδηλώνοντας διαδικασία αποκοκκίωσης όμοια με αυτή που παρατηρείται στα περιφερικά άκρα των αλγοϋποδοχέων. Τελικό αποτέλεσμα ήταν ισχυρή αναλγητική αντίδραση. Αν και τα ανοσοκύτταρα εκκρίνουν και άλλα οπιοειδή (met-εγκεφαλίνη, δυνορφίνη, ενδομορφίνες), η ενδογενής αναλγησία αποδίδεται κύρια στην επίδραση της β-ενδορφίνης στους μ-υποδοχείς των νευρικών απολήξεων, όπως φανερώνεται από την καταστολή αναλγησίας που επιτυγχάνεται με την προσθήκη αντισώματος στη β-ενδορφίνη ή προσθήκη ανταγωνιστή μ-υποδοχέα.

Η ικανότητα των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (σπληνοκύτταρα, λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος, μονοκύτταρα, μακροφάγα) να συνεισφέρουν τα μέγιστα στην αντιμετώπιση του φλεγμονώδους πόνου φαίνεται επιπλέον μέσα από πειράματα σε ποντίκια κατόπιν χορήγησης κυτταροστατικών φαρμάκων, αλλά και κλινικές παρατηρήσεις σε ασθενείς με AIDS ή καρκίνο, με τις οποίες οι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς βιώνουν αυξημένο πόνο μετά από κάκωση ή στα πλαίσια νόσου. Σε ασθενείς δε με αυξημένο πόνο στα πλαίσια πολυνευροπάθειας, αυτός έχει συσχετιστεί με μειωμένο αριθμό CD4+ κυττάρων (*PJ Cabot 2001, Hermanussen S et al, 2004*). Αν στον περιφερικό αναλγητικό ρόλο των ανοσοκυττάρων προσθέσει κανείς τη δυνατότητά τους να ρυθμίζουν, υπό ορισμένες συνθήκες και μέσω κυτταροκινών, την απελευθέρωση β-ενδορφίνης από την υπόφυση (η οποία με τη σειρά της ρυθμίζει ανοσολογικές λειτουργίες μέσω οπιοειδών και μη οπιοειδών υποδοχέων), τότε αντιλαμβάνεται το βαθμό αλληλεπίδρασης

ανοσοποιητικού και νευροενδοκρινούς συστήματος στη μορφοποίηση του πόνου και παράλληλα τον κυρίαρχο ρόλο των κυττάρων του ανοσοποιητικού στην αντιμετώπισή του (*Teschemacher et al, 1990, Panerai AE et al, 1997*).

Το ενδοκυττάριο βιοσυνθετικό μονοπάτι της β-ενδορφίνης στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, που ενοποιεί τα συμπεράσματα των έως τότε διαθέσιμων εργασιών, αποκωδικοποιήθηκε σχετικά πρόσφατα και δείχνει πανομοιότυπο με τη διαδικασία σύνθεσης β-ενδορφίνης στην υπόφυση. Είναι γνωστό ότι στην υπόφυση ενήλικων πειραματοζώων η επεξεργασία της προοπιομελανοκορτίνης ξεκινά με την είσοδο του πρόδρομου της μορίου στο trans-Golgi δίκτυο, συνδεδεμένη με την καρβοξυπεπτιδάση E (CPE). Εκεί υφίσταται κατάτμηση σε επιμέρους πεπτίδια, υπό την επίδραση των ορμονών κονβερτάση 1- και 2 (PC1, PC2). Από την επίδραση της PC1 προκύπτουν τα μόρια της ACTH και β-LPH. Η PC2 μεταφέρεται στο δίκτυο Golgi από το ενδοπλασματικό δίκτυο, ως προ-ορμόνη, συνδεδεμένη με το πεπτίδιο 7B2 (chaperone-like binding protein). Αφού ενεργοποιηθεί, η PC2 καταλύει την παραγωγή β-MSH και ενδορφίνης από το μόριο της β-LPH.

Σε φλεγμαίνουσες περιοχές πειραματοζώων, αλλά και στη συστηματική κυκλοφορία αυτών κατά τη διάρκεια φλεγμονής, ανοσοϊστοχημικές χρώσεις και ανάλυση Western blotting ανέδειξαν την παρουσία POMC, CPE, PC1, PC2, 7B2 -με πλήρες μήκος μορίων- και ενδορφίνης σε μακροφάγα/μονοκύτταρα, κοκκιοκύτταρα και λεμφοκύτταρα. Τα ίδια μόρια παρατηρούνταν και στη συστηματική κυκλοφορία ποντικών που δεν είχαν υποβληθεί σε πρόκληση φλεγμονής, αλλά σε σημαντικά μικρότερες συγκεντρώσεις (*Mousa MA et al, 2004*).

Στα κύτταρα του ανοσοποιητικού εντοπίζονται επομένως τα πρόδρομα μόρια, τα τελικά προϊόντα των οπιοειδών πεπτιδίων, τα απαραίτητα ενζύμα για την παραγωγή τους και οι αντίστοιχοι υποδοχείς στην επιφάνεια της μεμβράνης τους (δύο επιπρόσθετα ενδογενή οπιοειδή, η ενδομορφίνη-1 και -2, έχουν επίσης απομονωθεί από πειραματόζωα. Εμφανίζουν ισχυρή συγγένεια με τους μ-υποδοχείς, χωρίς ακόμα γνωστά πρόδρομα μόρια). Με αυτόν τον τρόπο τα ενδογενή οπιοειδή χρησιμεύουν ως αγωγοί αμφίδρομων μηνυμάτων μεταξύ συστημάτων σε περιβάλλον φλεγμονής (*Machelska H, 2007*). Πώς όμως φτάνουν τα ανοσοκύτταρα που παράγουν οπιοειδή στην περιοχή που φλεγμαίνει, προκειμένου να ασκήσουν αναλγητική δράση;

Η χημειοταξία στην περιοχή της φλεγμονής ξεκινά με το αργό κύλισμα (rolling) των λευκών αιμοσφαιρίων κατά μήκος του ενδοθηλιακού τοιχώματος, με τη μεσολάβηση των L-,P- και E-σελεκτινών (διαμεμβρανικές γλυκοπρωτεΐνες μονής αλυσού, εκ των οποίων η L εκφράζεται στα λευκοκύτταρα, ενώ οι P- και E- στα ενδοθηλιακά κύτταρα). Στη συνέχεια τα λευκοκύτταρα ενεργοποιούνται από χημειοκίνες που απελευθερώνονται από ενδοθηλιακά και φλεγμονώδη κύτταρα και εκφράζονται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή και ισχύ σύνδεσης των ιντεγκρινών (υποδοχείς που εξυπηρετούν σκοπούς πρόσφυσης), οι οποίες μεσολαβούν στην ισχυρή πρόσφυση των λευκών αιμοσφαιρίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Στην πρόσφυση αυτή, πολύ σημαντικό ρόλο παίζουν μόρια όπως το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1). Η συμβολή του στην κλινική εκδήλωση της φλεγμονής -και ειδικότερα στην ένταση του πόνου που αυτή συνεπάγεται- έχει μελετηθεί επισταμένα. Έχει παρατηρηθεί ότι σε φλεγμαίνοντες ιστούς πειραματοζώων διαπιστώνεται σημαντική αύξηση των μικρών και μεγάλων αγγείων που εκφράζουν το ICAM-1 στο ενδοθήλιο τους. Χορήγηση ειδικού αντισώματος κατά του μορίου αυτού μείωσε δραματικά την εξαγγείωση προς την περιοχή της φλεγμονής των κυττάρων που περιέχουν β-ενδορφίνη και την εξ αυτών προκαλούμενη αναλγησία (Machelska H et al, 2002). Τελικά, τα λευκοκύτταρα διαπηδούν μέσω του ενδοθηλίου, με τη βοήθεια μορίων, όπως το PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1).

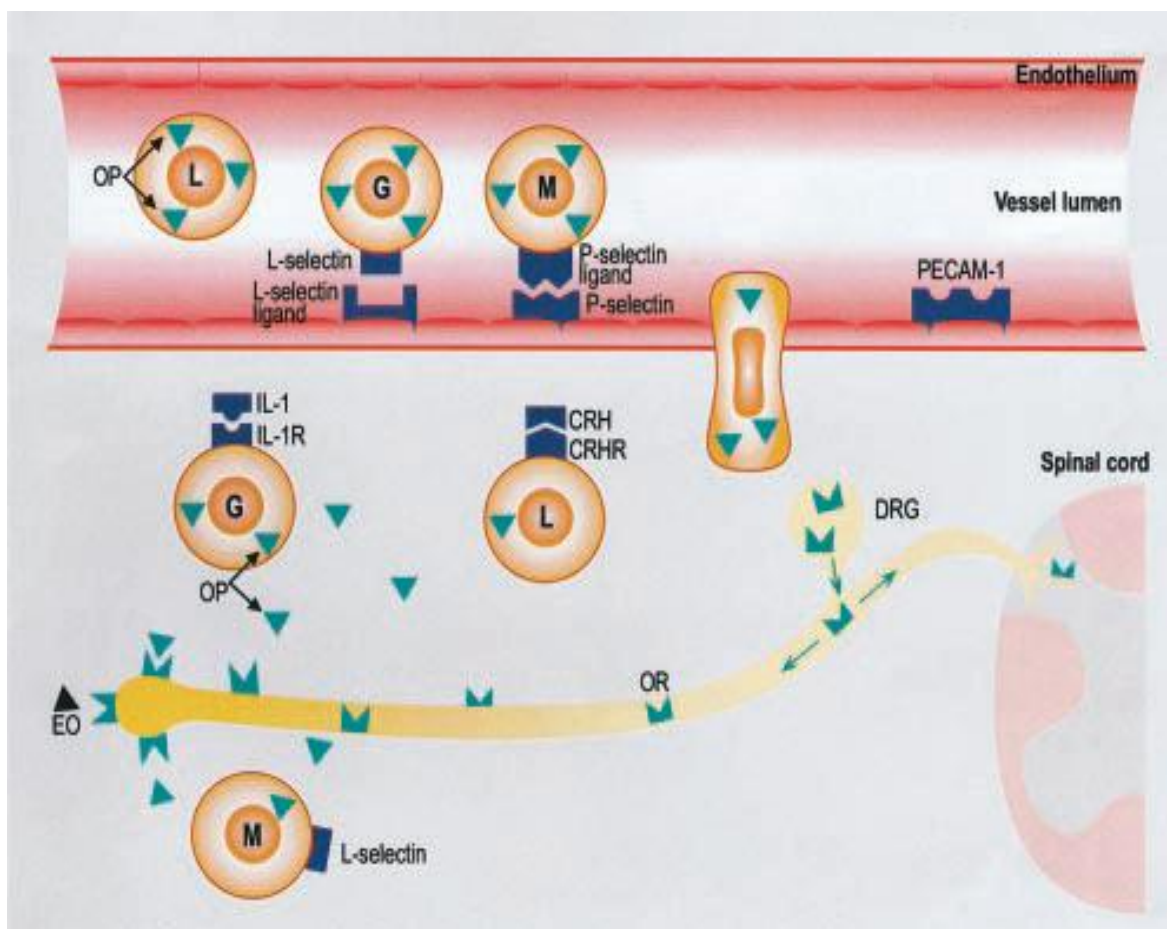
Τα παραπάνω μόρια εκφράζονται έντονα (upregulation) σε καταστάσεις φλεγμονής, ενώ υπαραχνοειδής χορήγηση μορφίνης στο νωτιαίο μυελό και άμβλυση του αισθήματος του πόνου οδηγεί σε ελαττωμένη χημειοταξία (καθ'ότι ελαττωμένη ανάγκη) των λευκοκυττάρων που παράγουν οπιοειδή, υποδηλώνοντας κεντρική ρύθμιση του συγκεκριμένου μηχανισμού περιφερικής αναλγησίας. Στα αρχικά στάδια φλεγμονής τα κοκκιοκύτταρα είναι η κύρια πηγή παραγωγής οπιοειδών. Σε μετέπειτα στάδια φλεγμονής κυριαρχούν τα μονοκύτταρα και μακροφάγα στην παραγωγή οπιοειδών (Machelska H, 2007).

Η β-ενδορφίνη βρίσκεται αποθηκευμένη πλησίον της κυτταρικής μεμβράνης των παραπάνω κυττάρων, σε κοκκία προερχόμενα από το δίκτυο του Golgi, έτοιμη προς εξωκύττωση. Όπως ισχύει και με την υπόφυση, ο παράγων απελευθέρωσης κορτικοτρόπου (CRF) και η ιντερλευκίνη-1β αποτελούν ισχυρά ερεθίσματα εξωκύττωσης. Ο CRF ασκεί

παρακρινή δράση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, όπου και παράγεται. Ανιχνεύεται επίσης σε ινοβλάστες και κύτταρα αγγειακού ενδοθηλίου σε αυξημένες συγκεντρώσεις σε συνθήκες φλεγμονής. Σε μελέτες σε ποντίκια στα οποία είχε προκληθεί φλεγμονή, φάνηκε επίσης η έκφραση υποδοχέων ιντερλευκίνης-1β και CRF, στα κύτταρα του ανοσοποιητικού, παράλληλα με την έκφραση β-ενδορφίνης. Αντιθέτως, έκφραση τέτοιων υποδοχέων δεν εντοπίστηκε στα περιφερικά άκρα αισθητικών νευρικών ινών. Τα χαρακτηριστικά τόσο των CRF και IL-1β, όσο και των υποδοχέων τους, είναι πανομοιότυπα με των αντίστοιχων μορίων της υπόφυσης. Οι CRF και ιντερλευκίνη 1β προκαλούν έκκριση οπιοειδών πεπτιδίων από τα λεμφοκύτταρα κατόπιν εκλεκτικής σύνδεσης με τους υποδοχείς τους και με ασβεστιο-εξαρτώμενο τρόπο. Η δράση τους σε συνθήκες φλεγμονής είναι κυρίως τοπική, καθώς έγχυσή τους στη φλεβική κυκλοφορία, σε αυτές τις συγκεντρώσεις, δεν εκλύει παρόμοιες αντιδράσεις. Το τελικό αποτέλεσμα είναι αναλγητικό και μεσολαβείται από τη δράση κυρίως της β-ενδορφίνης, όπως έδειξαν *in vivo* η χορήγηση CRH και IL-1β και η χορήγηση ανταγωνιστών τους, καθώς και αντισώματος κατά β-ενδορφίνης σε ποντίκια (Schaffer et al 1994, 1996, Machelska H and Stein C, 2002, εικ 8).

Εκτός των παραπάνω υποδοχέων και των συνδετών τους, που επάγουν απελευθέρωση β-ενδορφίνης σε περιβάλλον φλεγμονής, τα φλεγμονώδη κύτταρα πλησίον συμπαθητικών νευρικών ινών εκφράζουν επίσης α1-, β2- και σε μικρότερο βαθμό α2 αδρενεργικούς υποδοχείς, η εκλεκτική σύνδεση των οποίων με νοραδρεναλίνη (προερχόμενη από τις νευρικές ίνες) επίσης επάγει απελευθέρωση οπιοειδών από λεμφοκύτταρα ποντικών (Machelska H, Stein C, 2006). Ωστόσο, η ειδικότερη επίδραση των περιφερικών αδρενεργικών υποδοχέων στη ρύθμιση του άλγους είναι αμφιλεγόμενη. Σε μη φλεγμαίνοντες ιστούς η έγχυση νοραδρεναλίνης προκαλεί άλγος μέσω α2 αδρενεργικών υποδοχέων, τη στιγμή που άλλοι ερευνητές έχουν δείξει την επίτευξη αναλγησίας μετά από χορήγηση α2 αγωνιστών. Πιθανολογείται ότι το άλγος άγεται μέσω α2b και η αναλγησία μέσω α2c αδρενεργικών υποδοχέων (Machelska H, 2007).

Οι χημειοκίνες, ως χημειοτακτικοί μεσολαβητές, ελέγχουν την κυκλοφορία κυττάρων κάτω από φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις. Απελευθερώνονται από λευκοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνοντας την ισχύ πρόσφυσης των πρώτων στο ενδοθήλιο και τη χημική τους συγγένεια με τα διάφορα μόρια προσκόλλησης.



εικ 8. μηχανισμοί που εμπλέκονται στην περιφερική αναλγησία: φλεγμονή υποδορίου οδηγεί σε αυξημένη μεταφορά υποδοχέων οπιοειδών (OR) από τα ραχιαία αισθητικά γάγγλια στα περιφερικά άκρα αισθητικών νευρώνων. Η έκφραση P- σελεκτίνης και του μορίου προσκόλλησης αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο (platelet-endothelial adhesion molecule-1, PECAM-1) αυξάνεται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, ενώ η L-σελεκτίνη συνεκφράζεται με οπιοειδή πεπτίδια στα ανοσοποιητικά κύτταρα. Η L- και P- σελεκτίνη, μέσω σύζευξης με τους υποδοχείς τους, κατευθύνουν τα ανοσοκύτταρα, που περιέχουν οπιοειδή, από τη συστηματική κυκλοφορία στους φλεγμαίνοντες ιστούς. Επίδραση παραγόντων, όπως ο CRH και η IL-1β, κατόπιν σύζευξης με τους υποδοχείς τους, επάγουν την έκκριση οπιοειδών από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού (G: κοκκιοκύτταρα, κυρίως στην περιοχή της φλεγμονής στα αρχικά της στάδια, 2-6 ώρες από την έναρξή της. L: λεμφοκύτταρα, M: μονοπύρρηνα/μακροφάγα, κύριος τύπος ανοσοκυττάρων σε όψιμα στάδια φλεγμονής). Από Machelska H and Stein C, 2002.

Σε πρώιμα στάδια φλεγμονής οι χημειοκίνες CXCL1 και CXCL2/3 ανευρίσκονται σε αυξημένες συγκεντρώσεις και συνδέονται εκλεκτικά με τον υποδοχέα CXCR2, στην επιφάνεια των κοκκιοκυττάρων. Μια τέτοια σύνδεση παίζει σημαντικό ρόλο στον πόνο

και την αναλγησία, επάγοντας απελευθέρωση β-ενδορφίνης από τα κοκκιοκύτταρα και μειώνοντας την ευαισθησία των νευρικών ινών στα επώδυνα ερεθίσματα (εικ 9).

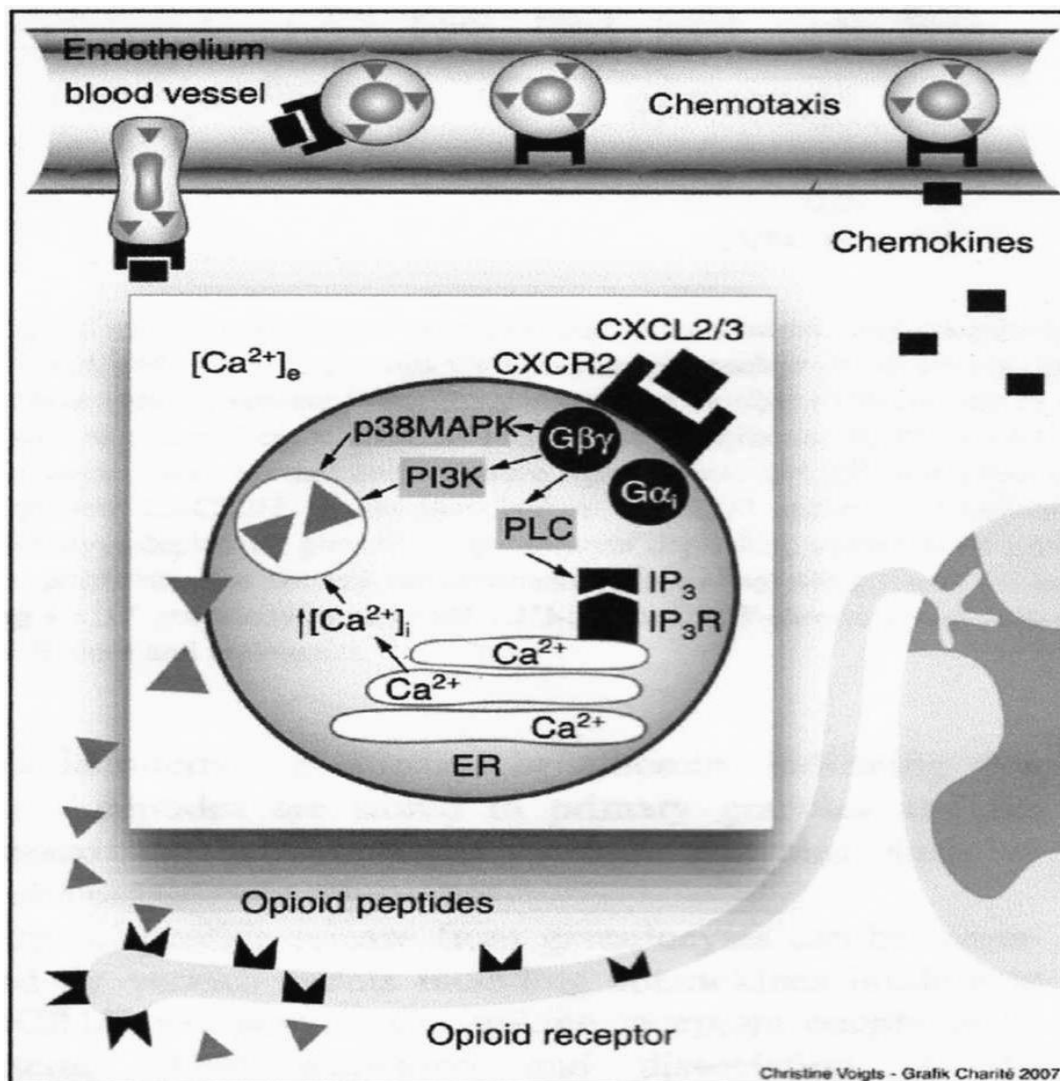
Μελέτες σε ποντίκια, στα οποία είχαν χορηγηθεί αντισώματα κατά CXCL1 ή CXCL2/3, φάνηκε η σημαντική μείωση των κοκκιοκυττάρων, αλλά όχι και των μονοπυρήνων/μακροφάγων, που αθροίζονται στους φλεγμαίνοντες ιστούς. Ως αποτέλεσμα παρατηρήθηκε η αυξημένη ευαισθησία σε επώδυνα ερεθίσματα, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η ύπαρξη ακέραιου καταρράκτη χημειοκινών συνιστά προϋπόθεση για τη λειτουργία περιφερικού μηχανισμού αναλγησίας μέσω β-ενδορφίνης (*Rittner HL et al, 2008*).

Ως χημειοτακτικές ουσίες για τα λευκοκύτταρα που περιέχουν ενδογενή οπιοειδή δρουν επίσης το συμπλήρωμα καθώς και νευροπεπτίδια. Η ουσία P δρα ως τέτοια ουσία, συνδεδεμένη με υποδοχείς NK1. Ως γνωστό, αρχικά περιγράφηκε ως μεσολαβητής στην αγωγή του πόνου στο κεντρικό νευρικό σύστημα και του νευροπαθητικού πόνου σε περιφερικούς ιστούς. Η σύνδεσή της με τους υποδοχείς NK1 ωστόσο, φαίνεται πως ασκεί παρακρινή δράση για την παραγωγή χημειοκινών όπως οι CXCL1 και CXCL2/3, ενώ και η ίδια διαθέτει χημειοτακτικές ιδιότητες για τα λευκά αιμοσφαίρια. Ένας τρίτος μηχανισμός για την προσέλκυση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος είναι η θετική επίδραση της ουσίας P στην έκφραση μορίων προσκόλλησης.

Τα κοκκιοκύτταρα διαθέτουν τέσσερα διαφορετικά είδη κοκκίων: αζουρόφιλα (κύρια), εξειδικευμένα κοκκία (δευτερογενή), κοκκία ζελατινάσης (τριτογενή) και εκκριτικά κυστίδια. Κάθε κατηγορία αναγνωρίζεται από ειδικές πρωτεΐνες, μυελοϋπεροξειδάση και CD63 για τα αζουρόφιλα, λακτοφερρίνη για τα δευτερογενή, ζελατινάση για τα τριτογενή και αλβουμίνη για τα εκκριτικά κυστίδια. Με τη χρήση συνεστιακής μικροσκοπίας αναδείχτηκε η συνύπαρξη β-ενδορφίνης και met-εγκεφαλίνης με μυελοϋπεροξειδάση και πρωτεΐνη CD63, αλλά όχι με τους άλλους πρωτεϊνικούς δείκτες, δηλωτικό της αποθήκευσης των ενδογενών οπιοειδών στα αζουρόφιλα κοκκία των κοκκιοκυττάρων.

Διάφοροι παράγοντες, μεταξύ των οποίων χημειοκίνες μετά από σύνδεση με υποδοχείς CXCR1/2, ευοδώνουν την απελευθέρωση οπιοειδών πεπτιδίων από κύτταρα φλεγμονής. Οι υποδοχείς χημειοκινών είναι συνδεδεμένοι σε ζεύγη με G πρωτεΐνες και όταν συνδέονται με τα μόρια χημειοκινών επέρχεται διαχωρισμός των ετεροτριμερών G

πρωτεϊνών. Οι προκύπτουσες Gβγ υπομονάδες ενεργοποιούν διάφορα μονοπάτια



Εικ9: ενδοκυττάρια μηχανισμοί απελευθέρωσης οπιοειδών από τα κοκκιοκύτταρα. Αρχικά, τα κοκκιοκύτταρα προσελκύονται στην περιοχή της φλεγμονής. Οι χημειοκίνες CXCL2/3 συνδέονται με τους υποδοχείς τους στην επιφάνεια των κοκκιοκυττάρων, οδηγώντας στην αποδόμηση των πρωτεϊνών G. Η υπομονάδα Gβγ, μέσω διαφόρων μοριακών μονοπατιών και με τη συνδρομή του ενδοκυττάρου ασβεστίου, καταλήγει στην απελευθέρωση της β-ενδορφίνης (από Rittner HL et al)

σηματοδότησης (signalling pathways), μεταξύ των οποίων τα μονοπάτια της φωσφωινοσιτόλης-3-κινάσης-γ και της κινάσης ενεργοποιούμενης από μιτογόνο p38. Ο δρόμος αποκοκκίωσης των οπιοειδών περνά μέσα από την ενδοκυττάρια απελευθέρωση

ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο. Επάρκεια ενδοκυττάριου ασβεστίου είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την ολοκλήρωση της διαδικασίας αποκοκκίωσης, ωστόσο δεν υπάρχει ανάλογη εξάρτηση και από το εξωκυττάριο ασβέστιο.

Σε κάθε περίπτωση, από τα πρώτα βήματα στην έκκριση των οπιοειδών πεπτιδίων φαίνεται πως είναι η μετατόπιση των αζουρόφιλων κοκκίων κοντά στην κυτταρική μεμβράνη (Rittner HL et al, 2005, 2008).

Σε άλλη μελέτη του ίδιου συγγραφέα δίνονται περισσότερες πληροφορίες για τους κυτταρικούς μηχανισμούς απελευθέρωσης οπιοειδών από τα κοκκιοκύτταρα. Ανάλογα με το ζωικό είδος τα πολυμορφοπύρρηνα εκφράζουν, μεταξύ άλλων, τους υποδοχείς CXCR1,2 ή/και -4. Στους ανθρώπους ο καλύτερα μελετημένος συνδέτης του υποδοχέα CXCR1/2 είναι ο CXCL8 (γνωστός και ως IL-8). Ο CXCL8 είναι ισχυρός διεγέρτης χημειοταξίας, απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών οξυγόνου και αποκοκκίωσης κυττάρων. Άλλα μόρια, όπως ο CXCL12 ή στρωματικός παράγων-1α, συνιστά το μόνο γνωστό συνδέτη του υποδοχέα CXCR4. Το μόριο αυτό δύναται να πυροδοτήσει απελευθέρωση ενδοκυττάριου ασβεστίου και ενεργοποίηση φωσφωϊνοσιτόλης-3 κινάσης (PI3K) στα κοκκιοκύτταρα, δεν μπορεί ωστόσο να προκαλέσει αποκοκκίωση οπιοειδών.

Η αποδόμηση των ετεροτριμερών G πρωτεϊνών και οι προκύπτουσες υπομονάδες Gβγ, παράγουν τριφωσφορική ινοσιτόλη μέσω ενεργοποίησης φωσφολιπάσης C. Η τριφωσφορική ινοσιτόλη συνδέεται με τους υποδοχείς της που εντοπίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και αυτή η σύνδεση οδηγεί στην απελευθέρωση του ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα. Επιπρόσθετα, η Gβγ ενεργοποιεί την PI3K, που επίσης παίζει ρόλο στην αποκοκκίωση, αν και δε φαίνεται να συμμετέχει στην κινητοποίηση ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο.

Τα παραπάνω δεδομένα επιβεβαιώθηκαν και *in vivo*, όταν η επαγόμενη από τις χημειοκίνες CXCL2/3 αναλγησία: χανόταν, μετά από εργαστηριακή εξάντληση των πολυμορφοπυρήνων σε ποντίκια, επανακτούνταν μετά από έγχυση αλλογενών πολυμορφοπυρήνων στα συγκεκριμένα πειραματόζωα και αναστελλόταν κατόπιν σύνδεσης του ενδοκυττάριου ασβεστίου με χηλικές ενώσεις.

Παρότι η δράση της CXCL1/2 ανέστρεψε πλήρως την υπεραλγησία από μηχανικό ερέθισμα, ήταν λιγότερο αποτελεσματική στην υπεραλγησία από θερμικό. Η παρατήρηση αυτή υποστηρίζεται από ευρήματα σε C νευρικές ίνες, που δείχνουν ότι τα οπιοειδή

καταστέλλουν τα θερμικά ερεθίσματα πιο αποτελεσματικά από τα αντίστοιχα θερμικά.

Παρόμοια αναλγητική επίδραση έχει περιγραφεί *in vitro* μετά από διέγερση των υποδοχέων CXCR1/2, ενώ διέγερση του CXCR4 από τη χημειοκίνη CXCL12 οδήγησε σε αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, χωρίς ωστόσο αποκοκκίωση. Η τελευταία παρατήρηση αποδίδεται στο γεγονός ότι η αποκοκκίωση αζουρόφιλων κοκκίων απαιτεί υψηλότερες συγκεντρώσεις ασβεστίου από αυτές που η δράση της CXCL12 μπορεί να πετύχει (Rittner HL, Labuz D et al, 2006).

Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ Β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΜΕΤΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΟ ΠΟΝΟ

Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι η β-ενδορφίνη είναι ενδογενής ουσία με ισχυρή περιφερική, πέραν της κεντρικής, δράση. Όσον αφορά την κατασταλτική επίδρασή της στο μετεγχειρητικό πόνο, όμως, το ενδογενές οπιοειδές ακόμα “προσπαθεί” να τεκμηριώσει την κλινική χρησιμότητά του στην αντιμετώπισή του, καθώς οι διαθέσιμες μελέτες δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, ιδίως αυτές που καταγράφουν τις συγκεντρώσεις της ουσίας στο πλάσμα, δηλαδή αυτής που παράγεται από την υπόφυση και απελευθερώνεται στη συστηματική κυκλοφορία.

Το ευρύ φάσμα έντασης του μετεγχειρητικού άλγους που βίωναν οι ασθενείς προβλημάτιζε τους ερευνητές, οι οποίοι υπέθεσαν ότι οι διαφορές στον πόνο και τη μετεγχειρητική χρήση μορφίνης θα μπορούσε να αποδοθεί στα διαφορετικά επίπεδα β-ενδορφίνης πλάσματος. Σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε λαπαροτομία για αντιμετώπιση καρκίνου γεννητικών οργάνων, διαπίστωσαν αντιστρόφως ανάλογη σχέση των προεγχειρητικών τιμών β-ενδορφίνης με το επίπεδο μετεγχειρητικού πόνου, όπως αυτό υπολογιζόταν από την απαιτούμενη χορήγηση μορφίνης, με τις μεγαλύτερες δόσεις αναλγησίας να χορηγούνται στους αρρώστους που είχαν μη μετρήσιμα επίπεδα ενδογενούς οπιοειδούς προεγχειρητικά (Cohen MR et al, 1982). Είναι προφανείς οι εγγενείς αδυναμίες εργασιών, που χρησιμοποιούν την απαιτούμενη αναλγησία ως μέτρο “βαθμολόγησης” του μετεγχειρητικού πόνου (η φαρμακοκινητική της μορφίνης ποικίλει, ανάλογα με το σωματικό βάρος και την ηλικία των ασθενών, στοιχεία που δε λαμβάνονται υπόψη στο

σχεδιασμό τους) και τα λάθη που ενδεχομένως αυτό συνεπάγεται στην εξαγωγή των συμπερασμάτων τους. Ωστόσο και άλλες μελέτες υποστηρίζουν τη λειτουργική χρησιμότητα του ενδογενούς αναλγητικού στον πόνο μετά το χειρουργείο. Οι Hargreaves και συν αναφέρουν στα αποτελέσματα ερευνών τους, ότι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε οδοντιατρικές επεμβάσεις υπό τοπική αναισθησία (ξυλοκαΐνη 2%) εμφάνιζαν κατά την επέμβαση αυξημένες συγκεντρώσεις β-ενδορφίνης πλάσματος και ότι ο καταγραφόμενος πόνος ήταν αντιστρόφως ανάλογος των επιπέδων αυτών (Hargreaves et al, 1983).

Η αντίστροφα ανάλογη σχέση μεταξύ προεγχειρητικής β-ενδορφίνης και πόνου αναδεικνύεται και σε μετρήσεις της ενδογενούς ουσίας στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Σε ομάδα ασθενών που αντιμετωπίστηκαν για καλοήγη υπερτροφία προστάτη με διουρηθρική εκτομή, υπό ενδορραχιαία αναισθησία, διαπιστώθηκε λιγότερος πόνος μετεγχειρητικά και επαρκέστερη αναλγητική κάλυψη από τα χορηγούμενα αναλγητικά, σε αυτούς οι οποίοι προεγχειρητικά είχαν επίπεδα β-ενδορφίνης εγκεφαλονωτιαίου υγρού πάνω από το μέσο όρο του υπό εξέταση πληθυσμού (Nader-Djalal N et al, 1995).

Η εξάρτηση που φαίνεται πως υπάρχει ανάμεσα στη β-ενδορφίνη και τον πόνο (υψηλά επίπεδα ενδογενούς οπιοειδούς προ- ή διεγχειρητικά συνεπάγονται χαμηλά επίπεδα πόνου δι- και μετεγχειρητικά), ενδεχομένως να είναι αμφίδρομη (μείωση πόνου οδηγεί σε ανάλογη μείωση ενδορφίνης), όπως έδειξαν μελέτες με χορήγηση αγωνιστών υποδοχέων οπιοειδών. Έτσι, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αφαίρεση γομφίων οδόντων, η χορήγηση φεντανύλης σε συνδυασμό με ξυλοκαΐνη οδήγησε σε χαμηλότερα - σε σχέση με την ομάδα ελέγχου- επίπεδα ενδορφίνης, σε συνδυασμό με χαμηλότερα επίπεδα πόνου (Hargreaves et al, 1986).

Άλλες μελέτες ωστόσο δείχνουν ότι η μειωμένη απελευθέρωση β-ενδορφίνης από την υπόφυση μετά τη χορήγηση αγωνιστών οπιοειδών, δεν έρχεται ως αποτέλεσμα της μειωμένης έντασης πόνου -που αποδεδειγμένα οι αγωνιστές επιτυγχάνουν- αλλά ως απόρροια της δράσης των εξωγενώς χορηγούμενων αγωνιστών ως αρνητικά ανατροφοδοτικά μηνύματα (negative feedback) στην υπόφυση. Επισημαίνεται δηλαδή ότι η καταστολή της β-ενδορφίνης εμφανίζεται ως αποτέλεσμα της αφθονίας των οπιοειδών στο περιβάλλον των υποδοχέων τους, ανεξάρτητα από τα επίπεδα άλγους, δημιουργώντας ερωτηματικά στο κατά πόσο μπορεί το ενδογενές αναλγητικό να αποτελεί “δείκτη” άλγους. Σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε απολίνωση σαλπίνγων, η προσθήκη φεντανύλης

κατά την εισαγωγή στην αναισθησία, μείωσε τα επίπεδα β-ενδορφίνης από την έναρξη του χειρουργείου έως και 4 ώρες μετά το τέλος του, χωρίς ωστόσο να διαφοροποιήσει τα επίπεδα πόνου, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου που δεν έλαβε φεντανύλη (Lacoumenta S et al, 1987).

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα αντίστοιχων εργασιών, οι Matejec και συν προχώρησαν στη μέτρηση συγκεντρώσεων β-ενδορφίνης σε πλάσμα και εγκεφαλονωτιαίο υγρό, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική ισχίου ή γόνατος -υπό ενδορραχιαία και γενική ενδοφλέβια αναισθησία- και συσχέτισαν τις μετρήσεις τους με το επίπεδο πόνου μετεγχειρητικά, εκτιμώμενο με κλίμακα VAS (Visual Analog Scale). Οι λήψεις αίματος και ENY αφορούσαν σε τέσσερεις χρονικές περιόδους, προ της εισαγωγής στην αναισθησία, μετά το πέρας του χειρουργείου και πριν την αποδρομή της ενδορραχιαίας αναισθησίας, επί μετεγχειρητικού πόνου και την πρώτη μετεγχειρητική μέρα. Τα αποτελέσματά τους κρίνονται ιδιαίτερα ενδιαφέροντα, καθώς επιχειρούν να φωτίσουν το ρόλο που μπορεί να έχει η ενδογενής ουσία στην καταστολή του άλγους και η φύση της αλληλεπίδρασής της με αυτό. Διαπίστωσαν ότι: 1) η β-ενδορφίνη πλάσματος εμφανιζόταν αυξημένη προεγχειρητικά και την ημέρα του χειρουργείου επί πόνου, ενώ με την αποδρομή της προποφόλης και υπό την επίδραση της ενδορραχιαίας αναισθησίας, καθώς και την πρώτη μετεγχειρητική μέρα, όπου δε διαπιστωνόταν πόνος, τα επίπεδα της ενδορφίνης ήταν πολύ μειωμένα ή μη ανιχνεύσιμα. 2) Η αύξηση της συγκέντρωσης β-ενδορφίνης επί άλγους ήταν ανάλογη της έντασής του. 3) Σε αντίθεση με τα έως τότε δεδομένα, ο μετεγχειρητικός πόνος ήταν επίσης ανάλογος και με τα προεγχειρητικά επίπεδα β-ενδορφίνης (πιο έντονος εμφανιζόταν στους ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα ενδογενούς αναλγητικού προ χειρουργείου). 4) Στο ENY δεν επαληθευόταν αύξηση συγκέντρωσης ενδογενούς οπιοειδούς ως αντίδραση στον πόνο, ενώ εμφάνιζε μέτρια αύξηση μετά την αποδρομή προποφόλης (Matejec R et al, 2003). Ο ίδιος συγγραφέας λίγα χρόνια αργότερα, χρησιμοποιώντας ραδιοανοσολογικές μεθόδους με υψηλή ειδικότητα για την αυθεντική β-ενδορφίνη [β-ενδορφίνη (1-31)], διαπίστωσε ότι η αύξησή της επί μετεγχειρητικού πόνου δεν ήταν τόσο μεγάλη όσο καταγραφόταν προηγούμενα (Matejec R et al, 2006). Όταν επιχειρήθηκε συγκριτική ανάλυση αυθεντικής β-ενδορφίνης (1-31) στο ENY με τα επίπεδα μετεγχειρητικού πόνου, διαπιστώθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της ενδογενούς ουσίας δεν μπορούσαν να συσχετιστούν με την αίσθηση του πόνου σε

περιεγχειρητικές συνθήκες. Αντιθέτως, η συγκέντρωση αναλόγων β-λιποτροπίνης -ενός άλλου παραγώγου προοπιομελανοκορτίνης- βρέθηκε να έχει διαφορετική κατανομή σε σχέση με το άλγος. Η συγκέντρωση αυτή στο ENY ήταν αντιστρόφως ανάλογη της έντασης του μετεγχειρητικού άλγους, υποδηλώνοντας παράλληλα διαφορετικούς μηχανισμούς ρύθμισής της με τη β-ενδορφίνη, παρ'ότι έχουν κοινό πρόδρομο μόριο (Matejec R et al, 2005).

Συμπερασματικά, οι μέχρι τώρα μελέτες πάνω σε χειρουργημένους ασθενείς δε φαίνονται να αποκαθιστούν κάποιο αναλγητικό ρόλο για το ενδογενές οπιοειδές, με προγνωστική σημασία στο μετεγχειρητικό πόνο. Πιο πιθανός διαφαίνεται ο ρόλος του ως δείκτη στρες του οργανισμού. Παρ'όλα αυτά, οι συγκεντρώσεις β-ενδορφίνης (1-31) στο πλάσμα και στο ENY δεν αντικατοπτρίζουν τις συγκεντρώσεις της ουσίας στους περιφερικούς ιστούς. Από τα ανωτέρω εξάλλου φαίνεται ότι η αναλγητική δράση της ουσίας αυτής σε επίπεδο περιφερικών ιστών και σε βαθμό που να είναι κλινικά εμφανής μετά το χειρουργείο, δεν μπορεί να αποκλειστεί.

Μελέτες σε ζώα και ανθρώπους έχουν δείξει την απελευθέρωση παράγοντα CRF (corticotropin releasing factor) στην κυκλοφορία, υπό την επίδραση ευρέος φάσματος στρεσογόνων παραγόντων. Αν και η αναλγητική επίδραση αυτού του παράγοντα, μετά από απελευθέρωσή του στη συστηματική κυκλοφορία, διερευνάται, με τα αποτελέσματα ερευνών να δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα (Lariviere WR and Melzack R, 2000), είναι γεγονός ότι τοπική επίδρασή του σε περιοχή φλεγμονής παράγει κλινικά εμφανή αναλγησία, η οποία μεσολαβείται από την παραγωγή και δράση β-ενδορφίνης. Ειδικότερα σε καταστάσεις φλεγμονής, τα λεμφοκύτταρα και τα μακροφάγα/μονοκύτταρα που συγκεντρώνονται, φαίνεται από ανοσοϊστοχημικές χρώσεις ότι συνεκφράζουν β-ενδορφίνη και υποδοχείς παράγοντα απελευθέρωσης κορτικοτρόπου ορμόνης CRH-R1 και CRH-R2 (Likar R et al, 2007). Επίδραση του παράγοντα CRF στα κύτταρα αυτά ευοδώνει την απελευθέρωση β-ενδορφίνης για την επίτευξη αναλγησίας, όπως δείχνουν τα αυξημένα επίπεδα πόνου μετά από τοπική εφαρμογή ναλοξόνης, ανταγωνιστή οπιοειδών (Stein C et al, 1993). Η αναλγητική επίδραση του CRH σε οδοντιατρικούς ασθενείς έχει επίσης καταδειχτεί (Hargreaves KM et al, 1987), ωστόσο περαιτέρω μελέτες πάνω στη συσχέτιση της αναλγητικής επίδρασης του CRH -με τη μεσολάβηση β-ενδορφίνης- και του μετεγχειρητικού πόνου λείπουν.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Είναι σαφές από πλειάδα μελετών ότι υπό περιεγχειρητικές συνθήκες παράγωγα προοπιομελανοκορτίνης, όπως η β-ενδορφίνη, η φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη, η β-λιποτροπίνη και άλλες, απελευθερώνονται από την υπόφυση στη συστηματική κυκλοφορία, ανταποκρινόμενες στο προεγχειρητικό στρες, τη χειρουργική βλάβη ή το μετεγχειρητικό πόνο (*Dubois M et al 1981, Hargreaves KM et al 1983, Lacoumenta S et al, 1987, Le Blanc-Louvry I et al, 2000 κλπ*).

Τα χαρακτηριστικά οπιοειδούς που έχει η β-ενδορφίνη υπήρξαν η αφορμή να της αποδοθούν ιδιότητες ενδογενούς αναλγητικής ουσίας κατά του μετεγχειρητικού πόνου, κάτι όμως που έπρεπε να προκύψει μέσα από συμπεράσματα εργασιών. Τα συμπεράσματα της διαθέσιμης βιβλιογραφίας μέχρι στιγμής δεν υποστηρίζουν την ύπαρξη κλινικά σημαντικής αναλγητικής δράσης της β-ενδορφίνης (1-31), τουλάχιστον αυτής που εκκρίνεται στη συστηματική κυκλοφορία και αυτής που ανευρίσκεται στο ENY.

Σημαντικό πρόβλημα στην εξαγωγή σαφούς εικόνας για το ρόλο της β-ενδορφίνης στο μετεγχειρητικό πόνο ήταν ο πολύ μικρός αριθμός των μελετών που ασχολήθηκαν με το ερώτημα, ενώ επιπρόσθετη δυσκολία στη διαμόρφωση συμπερασμάτων προκαλούσε η μεγάλη τους ετερογένεια (οδοντιατρικές επεμβάσεις, ορθοπεδικές επεμβάσεις και λαπαροτομίες σε καρκινοπαθείς). Επιπρόσθετα, το άλγος μετά το πέρας της επέμβασης αξιολογούνταν άλλοτε με χρήση κλίμακας VAS και άλλοτε πιο έμμεσα, με βάση την αναλγησία που απαιτούνταν μετεγχειρητικά. Καμία από τις διαθέσιμες μελέτες δεν αξιολόγησε το προεγχειρητικό άλγος των ασθενών με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων, αν και ψυχολογικοί παράγοντες επιδρούν τόσο στην αντίδραση στο αλγογόνο ερέθισμα (και επομένως στην απαίτηση για χορήγηση αναλγησίας), όσο και στην έκκριση ορμονών από την υπόφυση. Είναι αξιοσημείωτο εξάλλου, ότι αν και η αναλγητική δράση της β-ενδορφίνης είναι ερευνητική υπόθεση για περισσότερο από 30 χρόνια, η πρώτη φορά που μετρήθηκε αυθεντική β-ενδορφίνη [β-ενδορφίνη (1-31)], με τη χρήση υψηλής ειδικότητας ραδιοανοσολογικών μεθόδων, ήταν μόλις πρόσφατα (*Matejec R et al, 2006*). Το σύνολο των προγενέστερων μελετών χρησιμοποίησε μεθόδους που ανιχνεύουν επιτόπους κοινούς στη β-ενδορφίνη και πολλά άλλα παράγωγα προοπιομελανοκορτίνης, όπως η β-

λιποτροπίνη. Η τελευταία εμφανίζει διασταυρούμενη αντίδραση έως 16% με τη β-ενδορφίνη(1-31), διαφορετικές συγκεντρώσεις από αυτή (100 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ENY) και διαφορετική απάντηση σε διάφορες φάσεις περιεγχειρητικών συνθηκών (*Matejec R, Schulz A et al, 2006*). Εκτός από τη β-λιποτροπίνη, ένα σύνολο παραγώγων άγνωστης λειτουργικής δραστηριότητας επίσης ανιχνεύονταν, γνωστές ως “ανοσο-αντιδραστικό υλικό β-ενδορφίνης” (β-endorphin immunoreactive material), καθιστώντας αβέβαια τα όποια συμπεράσματα για τον ειδικότερο ρόλο της β-ενδορφίνης(1-31) στο μετεγχειρητικό άλγος.

Σε κάποιες από τις μελέτες έγινε χρήση φεντανύλης κατά την εισαγωγή στην αναισθησία ασθενών, ενώ δε γίνεται πουθενά λόγος για τυχόν χρήση άλλης -πλην μορφίνης- αναλγησίας μετεγχειρητικά. Η χρήση αυτών των φαρμάκων δυσχεραίνει περαιτέρω την προσπάθεια για εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, αφού είναι γνωστό ότι η φεντανύλη καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου προοπιομελανοκορτίνης -και επομένως τη σύνθεση β ενδορφίνης- ενώ τα μη οπιοειδή αναλγητικά έχουν ποικίλη επίδραση στην έκκριση του ενδογενούς οπιοειδούς (*Sprouse-Blum AS et al, 2010*).

Σε ενδεχόμενο αναλγητικό ρόλο οι τιμές β-ενδορφίνης οφείλουν να είναι αντιστρόφως ανάλογες της έντασης του άλγους (χαμηλές τιμές στους ασθενείς που πονούν πολύ και αντίστροφα). Το ύψος των προεγχειρητικών και μετεγχειρητικών τιμών της ενδογενούς ουσίας όμως, εμφανίζεται κατ'αναλογία της έντασης πόνου, δημιουργώντας βάσιμες αμφιβολίες για το ρόλο της ως κλινικά αποτελεσματικού αναλγητικού. Στην περίπτωση αυτή φαίνεται πως το ενδογενές οπιοειδές συμπεριφέρεται ως δείκτης στρες και συναισθηματικής επεξεργασίας του πόνου από το ΚΝΣ (*Matejec R et al, 2003*).

Σε αντίθεση με τα παραπάνω, ο ρόλος της β-ενδορφίνης που παράγεται στην περιφέρεια από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού ως ουσίας με σημαντική αναλγητική δράση, εμφανίζεται πιο λογική και βάσιμη, αν και οι σχετικές μελέτες σε χειρουργημένους ασθενείς λείπουν. Εξάλλου, ο CRH ασκεί αναλγητική δράση τόσο μετά από τοπική έγχυση, όσο και συστηματικά, με μηχανισμούς στην τελευταία περίπτωση που δε συμπεριλαμβάνουν τη διαμεσολάβηση φλεγμονής ή τη δράση β-ενδορφίνης, αλλά απευθείας δράση στα αισθητικά και συμπαθητικά γάγγλια (*Lariviere WR and Melzack R, 2000*). Υπό το πλαίσιο αυτό, η μελέτη των συγκεντρώσεων CRF στο πλάσμα ασθενών με μετεγχειρητικό άλγος, ως ενδιάμεσου σηματοδοτικού μορίου ενεργοποίησης

ανοσοκυττάρων για έκκριση β-ενδορφίνης, αλλά και ως ανεξάρτητου μορίου με αναλγητική δράση, συνιστά ενδιαφέρουσα ερευνητική πρόταση.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abrahamsen B, Zhao J, Asante CO, et al. "The cell and molecular basis of mechanical, cold and inflammatory pain". *Science* 2008;321(5889):702-705
2. Alloui A, Zimmermann K, Mamet J et al. "TREK-1, a K⁺ channel involved in polymodal pain perception". *EMBO Journal* 2006;25:2368-2376
3. Alessandri-Haber N, Dina OA, Joseph EK, Reichling D, Levine JD. "A transient receptor potential vanilloid 4-dependent mechanism of hyperalgesia is engaged by concerted action of inflammatory mediators". *J Neurosci* 2006;26:3864-3874
4. Atzeni, F., Turiel, M., Capsoni, F., et al. "Autoimmunity and anti-TNF-alpha agents". *Ann. N Y Acad. Sci.* 1051:559-569
5. Bandell M, Story GM, Hwang SW, Viswanath V, Eid SR, Petrus MJ, Earley TJ, Patapoutian A. "Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin". *Neuron* 2004;41:849-57
6. Basbaum I Allan, Bautista M Diana, Scherrer Gregory, Julius David. "Cellular and Molecular Mechanisms of Pain" *Cell* 2009;139:267-281
7. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. "TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents". *Cell* 2006;124:1269-1282
8. Bautista DM, Siemens J, Glazer JM, Tsuruda PR, et al. "The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold" *Nature* 2007;448:204-8
9. Bessac, B.F., and Jordt, S.E. (2008). "Breathtaking TRP channels: TRPA1 and TRPV1 in airway chemosensation and reflex control". *Physiology* 2008;23:360-370
10. Cabot PJ. "Immune-derived opioids and peripheral antinociception". *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001;28(3):230-2
11. Caceres, A.I., Brackmann, M., Elia, M.D., Bessac, B.F., del Camino, D., et al. "A sensory neuronal ion channel essential for airway inflammation and hyperreactivity in asthma". *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:9099-9104
12. Capra NF, Ro JY. "Human and animal experimental models of acute and chronic muscle pain: intramuscular algescic injection" *Pain* 2004;110:3-7
13. Chao, M.V. "Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many

signalling pathways". *Nat Rev Neurosci* 2003;4:299-309

14. Chemin J, Patel A, Duprat F, Zanzouri M, Lazdunski M, Honore E. "Lysophosphatidic acid operated K⁺ channels". *J Biol Chem* 2005;280(6):4415-21
15. Chen X, Tanner K, Levine JD. "Mechanical sensitization of cutaneous C-fiber nociceptors by prostaglandin E2 in the rat" *Neurosci Lett* 1999;267:105-108
16. Cho H, Shin J, Shin CY, Lee SY, Oh Y. "Mechanosensitive ion channels in cultured sensory neurons of neonatal rats" *J Neurosci* 2002;22:1238-47
17. Chuang, H.H., Prescott, E.D., Kong, H., Shields, S., Jordt, S.E., Basbaum, et al. "Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated inhibition". *Nature* 2001;411:957-62
18. Cohen Martin R, Pickar David, Dubois Michel, Bunny William E Jr. "Stress-Induced Plasma Beta-Endorphin Immunoreactivity May Predict Postoperative Morphine Usage". *Psychiatry Res* 1982;6:7-12
19. Colburn RW, Lubin ML, Stone DJ, Wang Y, Lawrence D, D'Andrea MR, Brandt MR, Liu Y, Flores CM, Qin N. "Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice". *Neuron* 2007;54:379-386
20. Dhaka A, Murray AN, Mathur J, Earley TJ, Petrus MJ, Patapoutian A. "TRPM8 is required for cold sensation in mice". *Neuron* 2007;54:371-378
21. Dhaka A, Viswanath V, Patapoutian A. "Trp ion channels and temperature sensation". *Annu Rev Neurosci* 2006;29:135-161
22. Dubois M, Pickar D, Cohen MR, et al. "Surgical stress in humans is accompanied by an increase in plasma beta endorphin immunoreactivity". *Life Sci* 1981;29:1249-1254
23. Foulkes Thomas, Wood N John. "Mechanisms of Cold Pain" *Channels* 2007;1(3):154-160
24. Gevaert T, Vriens J, Segal A et al. "Deletion of the transient receptor potential cation channel TRPV4 impairs murine bladder voiding". *J Clin Invest* 2007;117:3453-3462
25. Gotoh H, Takahashi A. "Mechanical stimuli induce intracellular calcium response in a subpopulation of cultured rat sensory neurons" *Neuroscience* 1999;92:1323-1329
26. Grant AD, Cottrell GS, Amadesi S et al. "Protease-activated receptor 2 sensitizes the transient receptor potential vanilloid 4 ion channel to cause mechanical hyperalgesia in

mice". J Physiol 2007;715-733

27. Guieu R, Dufour H, Devaux C, Brue T, Rosso JP, Grisoli F, Grino M, Enjalbert A, Begoud D, Broder N, Rochat H, Jaquet P. "The hormonal response to stress is not modified by the dramatic decrease in prolactin plasma concentration during surgery for microprolactinoma". J Neurol Neurosurg Psychiatry 1998;65:502-507
28. Guler AD, Lee H, Iida I, et al. "Heat-evoked activation of the ion channel, TRPV4". J Neurosci 2002;22:6408-6414
29. Hargreaves KM, Dionne RA, Mueller GP. "Plasma Beta Endorphin-like Immunoreactivity, Pain and Anxiety Following Administration of Placebo in Oral Surgery Patients". J Dent Res 1983;62(11):1170-1173
30. Hargreaves KM, Dionne RA, Mueller GP, Goldstein DS, Dubner R. "Naloxone, fentanyl and diazepam modify plasma beta endorphin levels during surgery". Clin Pharmacol Ther 1986;40:165-171
31. Hargreaves KM, Mueller GP, Dubner R et al. "Corticotropin-releasing factor (CRH) produces analgesia in humans and rats". Brain Res 1987;422:154-157
32. Hartwig C Andrew. "Peripheral Beta-Endorphin and Pain Modulation". Anesth Prog 1991;38:75-78
33. Hassan AHS, Ableitner A, Stein C, Herz A. "Inflammation of the rat paw enhances axonal transport of opioid receptors in the sciatic nerve and increases their density in the inflamed tissue". Neuroscience 1993;55:185-95
34. Hermanussen S, Do Myhong, Cabot PJ. "Reduction of β -endorphin-containing immune cells in inflamed paw tissue corresponds with a reduction in immune-derived antinociception: reversible by donor activated lymphocytes". Anesth Analg 2004;98:723-9
35. Hill K, Schaefer M. "TRPA1 is differentially modulated by the amphipathic molecules trinitrophenol and chlorpromazine". J Biol Chem 2007;282:7145-7153
36. Hinman, A., Chuang, H.H., Bautista, D.M., and Julius, D. "TRP channel activation by reversible covalent modification". Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:19564-19568
37. Holden JE, Jeong Y, Forrest JM. "The endogenous opioid system and clinical pain management". AACN Clin Issues 2005;16(3):291-301
38. Holzer P. "The pharmacological challenge to tame the transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) nocisensor". Br J Pharmacol 2008;155(8):1145-62

39. Jara-Oseguera A, Simon SA, Rosenbaum T. "TRPV1: on the road to pain relief". *Curr Mol Pharmacol* 2008;1(3):255-69
40. Ji R.R., Samad T.A., Jin S.X., Schmoll R., and Woolf C.J. (2002). "p38 MAPK activation by NGF in primary sensory neurons after inflammation increases TRPV1 levels and maintains heat hyperalgesia". *Neuron* 2002;36:57-68
41. Jordt, S.E., Bautista, D.M., Chuang, H.H., McKemy, D.D., Zygmunt, P.M., et al. "Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1". *Nature* 2004;427:260-265
42. Kwan KY, Allhorne AJ, Vollrath MA, Christensen AP, et al. "TRPA1 contributes to cold, mechanical and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction". *Neuron* 2006;50(2):277-89
43. Lacoumenta S, Yeo TH, Burrin JM, Bloom SR, Paterson JL, Hall GM. "Fentanyl and the b endorphin, ACTH and glucoregulatory hormonal response to surgery". *Br J Anaesth* 1987;59:713-720
44. Lariviere WR, Melzack R. "The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia". *Pain* 2000;84:1-12
45. Le Blanc-Louvry I, Coquerel A, Koning E, et al. "Operative stress response is reduced after laparoscopic compared to open cholecystectomy". *Dig Dis Sci* 2000;45:710-720
46. Likar R, Mousa SA, Steinkellner H, et al. "Involvement of intra-articular corticotropin-releasing hormone in postoperative pain modulation". *Clin J Pain* 2007;23:136-142
47. Louvry-Blanc I, Coquerel A, Koning E, Maillot C, Ducrotte P. "Operative Stress Response Is Reduced After Laparoscopic Compared to Open Cholecystectomy" *Digestive Diseases and Sciences* 2000;45(9):1703-1713
48. Lyons PD, Blalock JE. "Pro-opiomelanocortin gene expression and protein processing in rat mononuclear leukocytes". *J Neuroimmunol* 1997;78(1-2):47-56
49. Machelska H. "Targeting of opioid-producing leukocytes for pain control". *Neuropeptides* 2007;41(6):355-63
50. Machelska H, Mousa SA, Brack A, et al. "Opioid control of inflammatory pain regulated by intercellular adhesion molecule-1". *J Neurosci* 2002;22(13):5588-5596

51. Machelska H, Schopohl JK, Mousa SA, Labuz D, Schafer M, Stein C. "Different mechanisms of intrinsic pain inhibition in early and late inflammation". *J Neuroimmunol* 2003;141:30-39
52. Machelska H, Stein C. "Leukocyte-derived opioid peptides and inhibition of pain". *J Neuroimmune Pharmacol* 2006;1(1):90-7
53. Machelska H, Stein C. "Immune mechanisms in pain control". *Anesth Analg* 2002;95:1002-8
54. McMahon, S.B., Bennett, D.L.H., and Bevan, S. (2008). "Inflammatory mediators and modulators of pain". In Wall and Melzack's textbook of Pain (Philadelphia: Elsevier), S.B. McMahon and M.Koltzenburg, eds, pp 49-72
55. Macpherson, L.J., Dubin, A.E., Evans, M.J., Marr, F., Schultz, P.G., Cravatt BF, Patapoutian A. "Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines". *Nature* 2007;445:541-545
56. Maingret F, Fosset M, Lesage F, Fozdunski M, Honore E. "TRAAK is a mammalian neuronal mechano-gated K channel". *J Biol Chem* 1999 274(3):1381-7
57. Maingret F, Patel A, Lesage F, Fozdunski M, Honore E. "Mechano- or Acid Stimulation, Two Interactive Modes of Activation of the TREK-1 Potassium Channel". *J Biol Chem* 1999;274:26691-26696
58. Matejec R, Harbach HW, Bodeker RH, Hempelmann G, Teschemacher H. "Plasma levels of corticotroph-type pro-opiomelanocortin derivatives such as β -lipotropin, β -endorphin (1-31), or adrenocorticotrophic hormone are correlated with severity of postoperative pain". *Clin J Pain* 2006;22:113-121
59. Matejec R, Ruwoldt R, Bodeker RH, Hempelmann G, Teschemacher H. "Release of β -Endorphin Immunoreactive Material Under Perioperative Conditions into Blood or Cerebrospinal Fluid: Significance for Postoperative Pain?". *Anesth Analg* 2003;96:481-6
60. Matejec R, Schulz A, Muhling J, Unlich H, et al. "Preoperative concentration of β -lipotropin immunoreactive material in cerebrospinal fluid: a predictor of postoperative pain?". *Neuropeptides* 2006;40:11-21
61. Matta, J.A., Cornett, P.M., Miyares, R.L., Abe, K., Sahibzada, N., and Ahern GP. "General anesthetics activate a nociceptive ion channel to enhance pain and inflammation". *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:8784-8789

62. Mochizuki T, Sokabe T, Araki I et al. "The TRPV4 cation channel mediates stretch-evoked Ca influx and ATP release in primary urothelial cell cultures". *J Biol Chem* 2009;284: 21257-21264
63. Mousa MA, Shakibaei M, Sitte N, et al. "Subcellular pathways of β -endorphin synthesis, processing and release from immunocytes in inflammatory pain". *Endocrinology* 2004;145(3):1331-1341
64. Munns C, Alqatari M, Koltzenburg M. "Many cold sensitive peripheral neurons of the mouse do not express TRPM8 or TRPA1" *Cell Calcium* 2007;41:331-42
65. Muraki K, Iwata Y, Katanosaka Y, Ito T et al. "TRPV2 is a component of osmotically sensitive cation channels in murine aortic myocytes". *Circ Res* 2003;93:829-838
66. Nader-Djalal N, de Leon-Casasola Oscar A, Peer GL, Vladutiu AO, Lema MJ. "The influence of Preoperative Concentrations of β -Endorphin and Met-Enkephalin on the Duration of Analgesia After Transurethral Resection of Prostate" *Anesth Analg* 1995;81:591-5
67. Narita M, Tseng LF. "Evidence for the existence of the β -endorphin-sensitive ϵ -opioid receptor in the brain:the mechanisms of ϵ -mediated antinociception". *Jpn J Pharmacol* 1998;76:233-253
68. Noel J, Zimmermann K, Busserolles J et al. "The mechano-activated K⁺ channels TRAAK and TREK-1 control both warm and cold perception". *EMBO Journal* 2009;28:1308-1318
69. Obata K, Katsura H, Mizushima T, Yamanaka H, Kobayashi K, et al. "TRPA1 induced in sensory neurons contributes to cold hyperalgesia after inflammation and nerve injury". *J Clin Invest* 2005;115:2393-401
70. O'Dowd BF, Scheideler MA, Nguyen T, et al. "The cloning and chromosomal mapping of two novel human opioid-somatostatin-like receptor genes, GRP7 and GRP8, expressed in discrete areas of the brain". *Genomics* 1995;28:84-91
71. Pallinger E, Gyorgy Csaba. "A hormone map of human immune cells showing the presence of adrenocorticotrophic hormone, triiodothyronine and endorphin in immunophenotyped white blood cells". *Immunology* 2007;123:584-589
72. Panerai AE, Sacerdote P. "Beta-endorphin in the immune system: a role at last?".

Immunol Today 1997;18(7):317-9

73. Petrus M, Peier AM, Bandell M et al. "A role of TRPA1 in mechanical hyperalgesia is revealed by pharmacological inhibition". *Mol Pain* 2007;3:40
74. Phillips WJ, Currier BL. "Analgesic pharmacology: I. Neurophysiology". *J Am Acad Orthop Surg* 2004;12:213-220
75. Pickar D et al. "Clinical Studies of the Endogenous Opioid System". *Biol Psychiatry* 1982;17(11):1243-76
76. Premkumar LS, Raisinghani M, Pingle SC, Long C, Pimentel F. "Downregulation of transient receptor potential melastatin 8 by protein kinase C-mediated dephosphorylation". *J Neurosci* 2005;25:11322-9
77. Rittner HL, Brack A, Stein C. "Pain and the immune system". *Br J Anaesth* 2008;101(1): 40-4
78. Rittner HL, Labuz D, Schaefer M et al. "Pain control by CXCR2 ligands through Ca²⁺ regulated release of opioid peptides from polymorphonuclear cells". *FASEB J* 2006;20(14): 2627-9
79. Rittner HL, Machelska H, Stein C. "Leukocytes in the regulation of pain and analgesia". *J Leuk Biol* 2005;78(6):1215-22
80. Rittner, H.L., Machelska, H., and Stein, C. "Immune system pain and analgesia". *Science of Pain* 2009;407-27
81. Schaefer M, Carter L, Stein C. "Interleukin-1 β and corticotropin-releasing factor inhibit pain by releasing opioids from immune cells in inflamed tissue". *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:4219-23
82. Schaefer M, Mousa MA, Zhang Q, et al. "Expression of corticotropin-releasing factor in inflamed tissue is required for intrinsic peripheral opioid analgesia". *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6096-6100
83. Snider, W.D., and McMahon, S.B. "Tackling pain at the source: new ideas about nociceptors". *Neuron* 1998;20:629-632
84. Sorkin LS, Wallace MS. "Acute pain mechanisms". *Surg Clin North Am* 1999;79(2):213-29
85. Spruce-Blum AS, Smith G, Sugai D et al. "Understanding endorphins and their importance in pain management". *Hawai Med Journal* 2010;69:70-1

86. Stein C, Hassan AHS, Lehrberger K, et al. "Local analgesic effect of endogenous opioid peptides". *Lancet* 1993;342:321-324
87. Stein C, Hassan AH, Przewlocki R, et al. "Opioids from immunocytes interact with receptors on sensory nerves to inhibit nociception in inflammation". *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:5935-5939
88. Stein C, Lang LJ. "Peripheral mechanisms of opioid analgesia". *Curr Opin Pharmacol* 2009;1:3-8
89. Stein C, Schafer M, Machelska H. "Attacking pain at its source: new perspectives on opioids". *Nat Med* 2003;9:1003-1008
90. Stein C, Zollner C. "Opioids and sensory nerves". *Handb Exp Pharmacol* 2009;194:495-518
91. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, Earley TJ, et al. "ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures". *Cell* 2003;112:819-829
92. Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, Eid SR. "The vanilloid receptor TRPV1. 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept". *Nature Rev Drug Discov* 2007;6:357-373
93. Teschemacher H, Koch G, Scheffler H et al. "Opioid peptides. Immunological significance?" *Ann NY Acad Sci* 1990;594:66-77
94. Tominaga M, Tominaga T. "Structure and function of TRPV1". *Pflugers Arch* 2005;451(1):143-50
95. Tseng LF. "Evidence for epsilon-opioid receptor-mediated beta endorphin-induced analgesia". *Trends Pharmacol Sci* 2001;22(12):623-30
96. Vellani V, Franchi S, Prandini M, et al. "Nimesulide inhibits protein kinase C epsilon and substance P in sensory neurons-comparison with paracetamol". *Journal of Pain Research* 2011;4:177-187
97. Voets T, Drogmans G, Wissenbach U. "The principle of temperature-dependent gating in cold and heat sensitive TRP channels". *Nature* 2004;430(7001):748-54
98. Wetzel C, Hu J, Riethmacher D et al. "A stomatin-domain protein essential for touch sensation in the mouse" *Nature* 445:206-209
99. Woodbury CJ, Zwick M, Wang S, et al. "Nociceptors lacking TRPV1 and TRPV2

have normal heat responses”. J Neurosci 2004;24(28):6410-5

100. Zadina J, Hackler L, Ge L-J, Kastin AJ. “A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor”. Nature 1997;386:499-502

101. Zimmermann K, Leffler A, Babes A, Cendan CM, Carr RW, Kobayashi J, Nau C, Wood JN, Reeh PW. “Sensory neuron sodium channel Nav 1.8 is essential for pain at low temperatures”. Nature 2007;447:856-9

102 Zurborg S, Yurgionas B, Jira JA, Caspani O, Heppenstall PA. “Direct activation of the ion channel TRPA1 by Ca^{+2} ”. Nat Neurosci 2007;10(3):277-279