

Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
Wydział Lekarski I

Andrzej Bet

**Powtarzalność zjawiska sumowania czasowego
w modelu bólu neuropatycznego
u zdrowych ochotników**

praca na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab.n.med. Paweł Sobczyński

Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii
I Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii
Uniwersytetu Medycznego
w Poznaniu

Poznań 2012

Podziękowania dla Pana Doktora Habilitowanego Pawła Sobczyńskiego, Doktora Remigiusza Lecybyła, Doktora Magdi Hanna i Doktora Juana Acosty.

Spis treści

1. Wykaz skrótów	4
2. Wstęp	6
2.1. Patofizjologia bólu	6
2.2. Teorie powstawania bólu neuropatycznego	9
2.3. Eksperymentalne modele bólu	13
2.3.1. Ewolucja eksperymentalnych modeli bólu	13
2.3.2. Modele bólu nocyceptywnego	14
2.3.3. Modele neuronalnej sensytyzacji	15
2.3.4. Modele ośrodkowej sensytyzacji	15
2.3.5. Ocena bólu eksperymentalnego	18
3. Cele badania	19
4. Dobór ochotników i metodyka badań	20
4.1. Ochotnicy	20
4.2. Kryteria włączenia do badania	20
4.3. Kryteria wyłączenia z badania	20
4.4. Schemat badania	20
4.5. Ocena bólu	22
4.6. Analiza statystyczna	22
5. Wyniki	24
5.1. Sumowanie czasowe	24
5.2. Powtarzalność	24
5.3. Liczebność próby	25
5.4. Tolerancja zastosowanego modelu	26
6. Dyskusja	27
7. Wnioski	32
8. Streszczenie	33
9. Summary	34
10. Ryciny i tabele	35
11. Piśmiennictwo	54

1. Wykaz skrótów

AMPA- α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy

ANOVA- analysis of variance, analiza wariancji

ATP- adenozyotrójfosforan

BOLD- Blood Oxygen Level Dependent, metoda obrazowania rezonansu magnetycznego, w której intensywność obrazu zależy od poziomu utlenowania hemoglobiny krwi

CHEPS- Contact Heat Evoked Potential Stimulation, ciepłe potencjały wywołane

CI- confidence interval, przedział ufności

DRG- dorsal root ganglion, zwój rdzeniowy

DT- detection threshold, próg detekcji bodźca

EEG- elektroencefalografia

EMG- elektromiografia

EPT-electrical pain threshold, próg bólu wywołanego bodźcem elektrycznym

fMRI- functional Magnetic Resonance Imaging, czynnościowe obrazowanie rezonansu magnetycznego

ICC- Intraclass Correlation Coefficient, współczynnik korelacji wewnątrzklasowej

IASP- International Association for the Study of Pain, Międzynarodowe Towarzystwo Badania Bólu

L-F TENS- Low Frequency Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, przezskórna elektrostymulacja nerwów o niskiej częstotliwości

LTD- Long Term Depression, długoterminowe tłumienie synaptyczne

NGF-Nerve Growth Factor, czynnik wzrostu nerwu

NMDA- N-metylo-D-asparaginianowy

NRS- numerical rating scale, skala oceny liczbowej

PET-Positron Emission Tomography, pozytonowa tomografia emisyjna

PAG- periaqueductal grey, istota szara okołowodociągowa

RVM- rostroventral medulla, brzuszno-dogłowa część rdzenia przedłużonego
ryc.- rycina

tab.- tabela

TNF- α - Tumor Necrosis Factor- α , czynnik martwicy guza

TRPM8-Transient Receptor Potential cation channel, subfamily M, member 8

TRPV 1-Transient Receptor Potential channel, subfamily V, member 1, receptor waniloidowy

TS- Temporal Summation, sumowanie czasowe

tsPDT-temporal summation pain detection threshold, próg sumowania czasowego

TTX- tetrodotoksyna

VAS- Visual Analogue Scale, skala analogowo-wzrokowa

WDR- Wide Dynamic Range, neurony konwergencyjne

WU- wind up, „samonapędzający się” mechanizm aktywacji receptorów NMDA

2. Wstęp

2.1 Patofizjologia bólu

Ból to nieprzyjemne doznanie czuciowe i emocjonalne związane z rzeczywistym lub potencjalnym uszkodzeniem tkanki, bądź jedynie opisywane w kategoriach takiego uszkodzenia ¹. Zgodnie z definicją ból jest zjawiskiem nie tylko somatycznym, ale także subiektywnym doznaniem psychicznym. Jest to również prawdopodobnie najczęstszy objaw, z jakim spotyka się lekarz w trakcie swej praktyki zawodowej. Podstawową funkcją bólu ostrego jest ostrzeżenie przed czynnikami uszkadzającymi oraz ochrona przed ewentualnym dalszym uszkodzeniem i nasileniem zmian patofizjologicznych.

Proces powstawania odczucia bólowego nosi nazwę nocycepcji i składa się z trzech etapów: transdukcji, przewodzenia i percepcji. W pierwszym etapie energia bodźca uszkadzającego jest zamieniana na impulsy elektryczne, które następnie są przewodzone do organu docelowego, którym jest mózg.

Za odbiór bodźców bólowych o wielorakim charakterze (mechanicznym, termicznym, chemicznym) odpowiedzialne są wyspecjalizowane receptory zwane nocyceptorami. Zostały one sklasyfikowane w oparciu o cechy anatomiczne i fizjologiczne. Z powstawaniem tzw. pierwszego, dobrze zlokalizowanego i ostrego bólu związane są receptory cienkich, zmielinizowanych włókien A- δ . Są one wyspecjalizowane w odbieraniu bodźców mechanicznych i termicznych i przewodzą z prędkością 5-20 m/s. Polimodalne receptory niezmielinizowanych włókien C, charakteryzują się wolnym przewodzeniem (0,5- 2,0 m/s) i odpowiedzialne są za późny, piekący ból ^{2,3}. Ostatnią grupę nocyceptorów stanowią tak zwane „ciche” receptory C, które nie są wrażliwe na ponadprogowe bodźce mechaniczne lub termiczne, ujawniają swe właściwości w tkankach uszkodzonych lub zmienionych zapalnie. Są one szczególnie licznie reprezentowane w obszarze trzewnym i uważa się, że ich aktywacja doprowadza do zjawiska sumowania przestrzennego i uwrażliwienia receptorów na poziomie ośrodkowym ⁴.

Anatomiczna klasyfikacja receptorów bólu nie wyjaśnia w pełni mechanizmów powstawania bólu i utrudnia tworzenie strategii leczniczych. W tym celu powstała klasyfikacja biorąca pod uwagę ich właściwości biochemiczne. Włókna C peptydoergicznych receptorów, w których neuroprzekaznikami są substancja P i CGRP (calcitonin gene-related protein) tworzą ośrodkowe synapsy w powierzchniowych warstwach rogów tylnych rdzenia kręgowego (I i

zewnątrzną część II). Inna grupa nocyceptorów włókien C wykazuje ekspresję receptorów purynergicznycy P2X3 i tworzy połączenia z interneuronami głębokiej części warstwy II .

Ośrodkowe zakończenia włókien nocyceptywnych znajdują się także w warstwach V i X rdzenia ^{2,5}. Charakterystyczną cechą warstwy V jest występowanie w niej neuronów WDR (Wide Dynamic Range), które posiadają duże pola receptorowe i pobudzane są nie tylko przez bodźce bólowe, ale także impulsy czuciowe o szerokim zakresie natężenia (od dotyku aż po ból) z włókien A-β, A-δ i C ^{2,3}.

Z rogów tylnych bodźce przekazywane są do wyższych pięter układu nerwowego drogami rdzeniowo-wzgórzowymi, rdzeniowo-siatkowatymi i rdzeniowo-śródmózgowowymi. Ponadto liczne połączenia z podwzgórzem, układem limbicznym i hipokampem odpowiedzialne są za wymiar afektywny i pamięć bólu oraz odpowiedź neuroendokrynną ^{3,5}.

Ostatni etap nocycepcji, percepcja bólu, ma miejsce w korze wyspy, zakręcie obręczy i somatosensorycznej korze S1 i S2. W tych obszarach mózgu zachodzi lokalizacja przestrzenna i czasowa stymulacji bólowej oraz kształtowanie jego komponenty emocjonalnej².

Przedstawiona powyżej droga przewodzenia bólu jest jedynie uproszczonym schematem, który nie zmieniał się zasadniczo od czasów pionierskich badań nad bólem René Descartesa. (ryc.1)

W rzeczywistości nocycepcja nie jest prostym, sterowanym odgórnie układem z nieskomplikowaną zależnością bodziec-odpowiedź i podlega głębokim funkcjonalnym zmianom i modulacji. Po raz pierwszy zwrócili na to uwagę Ronald Melzack i Patrick Wall, których teoria bramki z 1965 r. rzuciła nowe światło na badania nad bólem i doprowadziła do bliższego przyjrzenia się zjawisku sensytyzacji i plastyczności ośrodkowego układu nerwowego ⁷.

W przebiegu procesów towarzyszących powstawaniu bólu dochodzi do pobudzenia obwodowego i ośrodkowego układu nerwowego, dzięki któremu organizm wraca do stanu homeostazy a ból i bolesność po pewnym czasie przemijają. Niestety wiele osób doświadcza bólu bez uchwytnego czynnika sprawczego lub cierpi z powodu długotrwałego bólu, który nie przemija pomimo ustania działania czynnika przyczynowego. Uważa się, że powstaje on w wyniku pierwotnego uszkodzenia lub dysfunkcji w układzie nerwowym i nazywany jest bólem neuropatycznym ¹.

Ból ostry i neuropatyczny różnią się etiologią, patofizjologią, rozpoznaniem i leczeniem. Ból ostry jest samo ograniczającym się procesem, a prawidłowo leczony zanika w krótkim okresie czasu. Jest to ból nocyceptywny, powstający w odpowiedzi na mechaniczną, termiczną lub

chemiczną stymulację receptorów polimodalnych włókien A- δ lub C. Towarzyszą mu minimalne zmiany psychiczne, ograniczone do niewielkiego pobudzenia i niepokoju.

Z drugiej strony, ból neuropatyczny nie posiada funkcji ostrzegawczej i ochronnej. Często nie jest objawem choroby, a procesem chorobowym samym w sobie. Pierwotna zmiana w układzie nerwowym powodująca jego powstanie może być wywołana wieloma czynnikami wymienionymi w tab.I^{8,9,10}.

W przeciwieństwie do bólu ostrego, ból neuropatyczny nie jest procesem, który dąży do samoograniczenia i powrotu do stanu równowagi fizjologicznej i może trwać lata, a nawet dekady po zadziałaniu czynnika sprawczego. Oporność na wiele metod uśmierzenia bólu i bardzo częste nieprawidłowe leczenie prowadzi do zaburzeń o typie psychologicznym, takich jak przewlekły niepokój, strach, obniżony nastrój, bezsenność, wycofanie społeczne. Ma to swoje implikacje w życiu codziennym, jak i w zawodowym.

Ból ostry i neuropatyczny są powodowane przez różne procesy patofizjologiczne. Ból fizjologiczny związany jest z aktywacją nocycceptorów tkankowych w skórze, mięśniach, kościach, trzewiach, a następnie z przekazaniem informacji włóknami A- δ i C do rogów tylnych rdzenia kręgowego.

Ból neuropatyczny, inaczej niż nocyceptywny, opisywany jest jako piekący, łaskoczący, „strzelający”, wywołujący uczucie „przejścia prądu elektrycznego”, niejednokrotnie o charakterze dyzestezji (nieprzyjemnego wrażenia powstającego spontanicznie lub pod wpływem bodźca)¹⁰. Charakterystycznymi zjawiskami występującymi u pacjentów z bólem neuropatycznym są hiperalgezia i alodynia. Hiperalgezia jest definiowana jako nadmierna wrażliwość na bodźce bólowe, a alodynia to odbieranie jako bolesne bodźców, który u zdrowych osobników nie wywołują bólu (np. dotyk)¹.

2.2 Teorie powstawania bólu neuropatycznego

Patofizjologia powstawania bólu neuropatycznego jest bardzo złożona i obejmuje mechanizmy obwodowe i ośrodkowe.

W teoriach tłumaczących obwodowe powstawanie bólu neuropatycznego zwraca się uwagę na niestalość progu pobudzenia nocyceptorów i ich dużą plastyczność powodowaną obwodową sensytyzacją. W rozwoju nadwrażliwości na ból pośredniczy miejscowe uwolnienie mediatorów chemicznych (nazywanych „koktajlem zapalnym”) i nagromadzenie komórek odpowiedzi zapalnej^{2,9}. Mediatory stymulują nocyceptory bezpośrednio (jony wodorowe, ATP, serotonina) lub poprzez uwrażliwienie na kolejne bodźce (bradykinina, leukotrieny, prostaglandyny, NGF)^{11,12,13}. W kolejnym stadium dochodzi do migracji komórek zapalnych (makrofagów, mastocystów, fibroblastów), które poprzez produkcję i uwalnianie interleukiny 1- β , czynnika martwicy guza TNF- α i czynnika wzrostu nerwów NGF przyczyniają się do obniżenia progu pobudliwości nerwów i tworzenia samoistnych wyładowań we włóknach A- δ i C^{14,15}. Przewlekający się stan zapalny poprzez aktywację drugiego układu sygnałów (cAMP, fosfokinazy A i C) powoduje zmiany w transkrypcji genów i procesach potranslacyjnych, co prowadzi do zaburzeń w budowie i funkcji receptorów⁹.

Ważną rolę odgrywa tworzenie patologicznych połączeń, tzw. efaps, pomiędzy aferentnymi włóknami nocyceptywnymi a współczulnymi, co wyjaśnia powstawanie bólu związanego z pobudzeniem układu współczulnego (complex regional pain syndrome- złożony wielobjawowy miejscowy zespół bólowy)¹⁶. Podobne zjawisko, „kielkowania”(z ang. sprouting) zakończeń nerwów z głębokich warstw rogów tylnych rdzenia (III i IV) do warstwy II, opisano dla włókien A- β . W konsekwencji sygnał wejściowy informujący o bodźcach mechanicznych odbierany jest jako nocyceptywny¹⁷.

Współdziałają w procesie sensytyzacji obwodowej mają również kanały jonowe włókien nerwowych, do których zalicza się sterowane napięciem kanały jonowe: kanały Na_v1.3, Na_v1.7, Na_v1.8, Na_v1.9, TRPV1. Ich nadmierna ekspresja zarówno w miejscu uszkodzenia nerwu, jak i w nieuszkodzonych zwojach rdzeniowych (DRG), prowadzi do ekotopowych, spontanicznych wyładowań impulsami o wysokiej częstotliwości¹⁸.

W ostatnich latach dużą wagę przywiązuje się do zmian w ośrodkowym układzie nerwowym, jako następstw rozprzestrzeniania się zmian obwodowych. W mechanizmach ośrodkowych dochodzi do uwrażliwienia neuronów w rogach tylnych rdzenia kręgowego, co przekłada się na obniżenie progu bólu, zwiększoną odpowiedź na bodźce, zwiększoną aktywność

spontaniczną, a w końcu na obumieranie komórek rogów tylnych rdzenia kręgowego. Centralną rolę w tych procesach odgrywa aminokwas pobudzający- kwas glutaminowy, ligand receptorów AMPA, których szybka i powtarzalna aktywacja powoduje powstawanie szybkich potencjałów synaptycznych i usunięcie jonów Mg^{2+} blokujących kanał jonowy związany z receptorem NMDA. Aktywacja receptorów NMDA powoduje napływ jonów wapnia do wnętrza komórek neuronów ich zwiększoną pobudliwość. Efektem tego jest także aktywacja cyklooksygenazy i lipooksygenazy, a w następstwie produkcja cytokin prozapalnych^{8,9,19,20}.

Źródeł patologicznego bólu poszukuje się również na wyższych piętrach układu nerwowego. Pień mózgu jest ośrodkiem układu modulującego, w skład którego wchodzi zstępujące drogi hamujące i pobudzające. Drogi pobudzające, które biorą początek w istocie szarej okołowodociągowej (PAG) i brzuszno-dogłowej części rdzenia przedłużonego (RVM) są odpowiedzialne za podtrzymanie ośrodkowej sensytyzacji. Z drugiej strony w przewlekłych stanach zapalnych zaobserwowano zmniejszoną aktywność zstępujących dróg hamujących, w których mediatorami są serotonina i adrenalina, co tłumaczy skuteczność leków przeciwdepresyjnych blokujących wychwyty tych neuroprzebieżników w bólu neuropatycznym. Do tej pory jednak nie udało się przekonująco wyjaśnić dlaczego zostaje zachwiana równowaga między tymi drogami i w niektórych zwierzęcych modelach bólu neuropatycznego dominuje aktywność dróg hamujących, a w innych aktywny jest zstępujący układ pobudzający^{21,22}.

Większość badań nad ośrodkową sensytyzacją skupia się na rdzeniu kręgowym, jako ośrodku, gdzie zachodzi większość zmian patologicznych. Wykazano jednak, że w bólu przewlekłym następują także zmiany w organizacji somatosensorycznej i w przetwarzaniu informacji nocycyptywnej w takich obszarach mózgu jak wzgórze, przedni zakręt obręczy i kora wyspy^{23,24,25}. Zmiany, które uwidoczono w badaniach fMRI i PET u pacjentów z bólem ośrodkowym, korelowały z intensywnością odczuwanego bólu i cofały się w wyniku skutecznej terapii przeciwbólowej²⁶.

Fizjologicznymi następstwami wymienionych wyżej procesów są: podwyższona samoczynna aktywność neuronów, poszerzenie neuronalnych pól odbiorczych i powodowana zmniejszeniem progu ekscytacji pobudliwość⁸. Jeżeli przyjmiemy, że każde z włókien nerwowych, które podlega tym procesom tworzy połączenia z tysiącami innych neuronów, to można wyobrazić sobie, jak ogromne są tego następstwa. Dlatego tak duże jest znaczenie rdzenia kręgowego w nocycepcji- nie tylko, jako etapu drogi bólowej, ale także miejsca gdzie zachodzą procesy modulacji i hamowania bólu.

Jednym z mechanizmów prowadzących do wystąpienia tych zmian jest sumowanie czasowe (TS, temporal summation) bodźców bólowych. Zjawisko to powstaje jako konsekwencja stymulacji włókien nerwowych C lub A δ z częstotliwością co najmniej 0.3 Hz^{27,28,29}. Jego wynikiem jest silniejsze odbieranie bodźców bólowych, a nawet odczuwanie jako bolesne bodźców, które normalnie nie wywołują bólu.(ryc.2)

Uważa się, że TS jest odpowiednikiem zjawiska wind-up (WP, „samonapędzającego się”) obserwowanego w badaniach na zwierzętach³⁰, a polegającego na sensytyzacji neuronów typu WDR znajdujących się w rogach tylnych rdzenia kręgowego. Zjawisko to, o nasileniu zależnym od częstotliwości stymulacji, po raz pierwszy zostało opisane przez Mendella w 1966 r.³¹. Jego ciekawą cechą jest pozostawanie neuronów tylnych rdzenia kręgowego w stanie zwiększonej reaktywności przez dłuższy okres czasu, także dla bodźców o częstotliwości niższej niż koniecznej wcześniej do wywołania zjawiska. Stan taki nazywany jest wind-up maintenance i prawdopodobnie jest związany z ośrodkową sensytyzacją i bólem przewlekłym, gdyż towarzyszą mu rozszerzenie pól receptorowych, hiperalgezia i alodynia oraz zwiększona aktywność spoczynkowa neuronów nocycyptywnych rdzenia kręgowego. Ważnym klinicznym następstwem WU jest fakt, że wraz z jego wystąpieniem już niewielki toniczny bodziec obwodowy jest w stanie podtrzymać zwiększoną aktywność neuronów rdzenia, a co za tym idzie ból³². Badania na zdrowych ochotnikach, podczas których sumowanie czasowe i ośrodkowa sensytyzacja były hamowane przez antagonistów receptora NMDA, takich jak ketamina lub deksstrometorfan, sugerują że sumowanie czasowe jest czynnikiem, który inicjuje ośrodkowe uwrażliwienie neuronów bólowych rdzenia kręgowego^{33,34,35}. Może ona być później podtrzymana przez stymulację o niskiej częstotliwości, która przyczynia się do rozwoju hiperalgezii i alodynii³⁶. Ośrodkowa sensytyzacja jest istotnym mechanizmem odpowiedzialnym za przejście bólu ostrego w ból przewlekły, a także za wygórowane odpowiedzi na bolesne i nie bolesne bodźce w neuropatycznych zespołach bólowych^{37,38}.

Wygórowane reakcje na sumowanie czasowe są opisywane u pacjentów z bólem neuropatycznym (obrażenia rdzenia kręgowego, neuralgia popółpaścowa), jak i z bólem nocycyptywnym (fibromialgia, zespoły bólowe stawu skroniowo-żuchwowego)^{39,40,41}.

Rozpoznanie i leczenie przewlekłego, neuropatycznego zespołu bólowego jest ogromnym wyzwaniem dla lekarzy. Dokładne ustalenie częstości występowania jest trudne ze względu na niejednoznaczne kryteria definiujące ból przewlekły. Przeprowadzony w 2008 r. w 16 krajach Europy sondaż „Pain in Europe” wykazał, że z jego powodu cierpi jeden na pięciu Europejczyków, a u co szóstego z badanych jego nasilenie powoduje okazjonalne

występowanie myśli samobójczych ⁴². Dostępne metody lecznicze, zarówno farmakologiczne jak i inwazyjne, są mało skuteczne i przynoszą jedynie częściową ulgę.

2.3. Eksperymentalne modele bólu

2.3.1. Ewolucja eksperymentalnych modeli bólu

Ponieważ odczuwanie bólu jest uwarunkowane przez liczne czynniki o charakterze emocjonalnym, psychologicznym i poznawczym, jego obiektywna charakterystyka może być utrudniona. Na ocenę kliniczną wpływają również przyjmowane przez chorego leki przeciwbólowe. Pacjenci często interpretują ich działania uboczne, takie jak sedacja i działanie przeciwdepresyjne, jako ulgę w bólu.

By uniknąć czynników wpływających na obiektywność badania i maksymalnie rzetelnie oceniać zjawiska bólowe opracowano liczne zastępcze modele bólu. Za ich pomocą badacz może kontrolować eksperymentalnie generowany ból i niektóre jego cechy np. natężenie, częstotliwość, lokalizację, czas działania oraz dokonywać ilościowej i jakościowej oceny odpowiedzi neurofizjologicznej organizmu na ból. Modele eksperymentalne zostały pomyślane jako ogniwo łączące badania nad molekularnymi mechanizmami nocycypcji a badaniami klinicznymi przeprowadzanymi u konkretnych chorych.

Pierwsze badania nad bólem przeprowadzono, z oczywistych względów, na zwierzętach doświadczalnych⁴⁴. Dzięki nim po raz pierwszy udało się w warunkach doświadczalnych imitować niektóre właściwości bólu neuropatycznego. Stosowano w nich bezpośrednio uszkodzenie nerwów (poprzez ich podwiązanie, wstrzyknięcie substancji drażniącej lub przecięcie korzeni grzbietowych), co zapewniało występowanie bólu przez kilka tygodni. Badanie zwierząt umożliwiło rejestrację neuronalnej aktywności nocycyptywnej i obserwację ich zmian w zachowaniu. Niestety obserwacja odruchów bólowych i zapisów elektrofizjologicznych z wybranych dróg przewodzenia bólu u zwierząt nie ukazują całej złożoności tak skomplikowanego procesu, jakim jest ból. Dodatkowo neurobiologia bólu różni się między gatunkami, co dodatkowo ogranicza możliwość prostej ekstrapolacji wyników badań na modelach zwierzęcych na ludzi.

Te ograniczenia akcentują konieczność opracowywania ludzkich modeli bólu, które mogłyby być zastosowane w badaniach przedklinicznych nowych leków przeciwbólowych i technik anestezyjologicznych.

Idealny model bólu spełnia następujące kryteria:

- 1) jest specyficzny dla bólu
- 2) posługuje się standaryzowanymi metodami
- 3) jest nieinwazyjny i nie powoduje uszkodzeń tkanek
- 4) jest powtarzalny i pozwala uzyskać wyniki godne zaufania

5) jest prosty do przeprowadzenia a wyniki uzyskane z jego pomocą łatwe do zinterpretowania

6) nie powoduje zmian psychicznych u badanych

7) badany może w każdej chwili przerwać test.

Niepowodzenie pierwszych prostych modeli, które miały za zadanie ocenić właściwości analgetyczne badanych leków za pomocą prostych bodźców nocycyptywnych, zahamowało ich rozwój na dekady⁴⁵. W międzyczasie stało się jasne, że sensytyzacja jest jednym z głównych zjawisk, które prowadzi do rozwoju bólu przewlekłego. Dlatego kolejne modele bólu opracowywano w taki sposób, by jak najlepiej naśladowały uwrażliwienie nocycceptorów obwodowych (zjawisko hiperalgezji pierwotnej) i neuronów rdzenia kręgowego (hiperalgezja wtórna).

2.3.2. Modele bólu nocycyptywnego

Te nieskomplikowane modele aktywują nocycceptory obwodowe bez wywoływania obwodowej i ośrodkowej sensytyzacji. Do oceny odpowiedzi bólowej stosowane są w nich subiektywne, psychofizyczne wskaźniki intensywności zastosowanych bodźców. Najszerzej rozpowszechnione do stymulacji mechanicznej skóry są włókna nylonowe von Freya i metalowe szpilki o identycznej końcówce, lecz o różnych ciężarach⁴⁶. Do stymulacji receptorów w głębiej położonych tkankach używane są algometry o większej powierzchni kontaktu ze skórą, a do wywoływania bólu trzewnego znajdują zastosowanie baloniki o kontrolowanym ciśnieniu⁴⁷. Dla pobudzenia receptorów temperatury dostępne są termody Peltiera, które pozwalają na dostarczanie kontrolowanych bodźców termicznych, lecz ich zastosowanie jest ograniczone głównie do skóry⁴⁸.

W przeciwieństwie do dobrze kontrolowanych czynników fizycznych, użycie substancji chemicznych przysparza więcej problemów. Wykorzystując je należy wziąć pod uwagę rodzaj środka, jego stężenie, powierzchnię badaną i sposób aplikacji. Do najpowszechniejszych technik należą: aplikacje naskórne, wstrzyknięcia (śródkórne, podskórne i domięśniowe), mikrodializy i iontoforezy. Najprostsze z nich, aplikacje naskórne, umożliwiają przedłużone stosowanie badanych substancji, jednakże ograniczonych do niewielkich cząsteczek będących w stanie przenikać naskórek (np. kapsaicyna)⁴⁹. Inną niedogodnością jest powstający w tej metodzie gradient stężeń, który utrudnia przewidzenie dokładnego stężenia wokół zakończeń nerwowych. Zaletą iniekcji jest dobra kontrola objętości i stężenia zastosowanego środka, wstrzyknięcie samo w sobie powoduje ból i może przyczynić się do powstania lokalnej reakcji zapalnej⁵⁰. Dzięki mikrodializie uzyskuje się

lepszą kontrolę miejscowego stężenia czynników drażniących, jednak również w tej technice uraz spowodowany zastosowaniem igły może wpłynąć na psychofizyczną ocenę bólu⁵¹.

Dla stymulacji rogówki i śluzówek nosa i jamy ustnej opracowano modele, które łączą bodźce mechaniczne, termalne i chemiczne. Wysokie przepływy gazów wytwarzają bodźce mechaniczne, ogrzane lub schłodzone powietrze- termiczne, a stosowany miejscowo dwutlenek węgla obniża pH powodując ból⁵².

2.3.3. Modele neuronalnej sensytyzacji

Te bardziej zaawansowane modele bólu są w stanie naśladować zjawiska obwodowej lub ośrodkowej sensytyzacji. Obwodowa sensytyzacja oznacza, że endogenny lub egzogenny mediator obniża próg pobudzenia i zwiększa dośrodkową impulsację z obwodowych nocycceptorów. Sensytyzacja ośrodkowa oznacza, że rdzeniowe przetwarzanie bodźców dośrodkowych jest uwrażliwione, co powoduje alodynię i hiperalgezę. Choć teoretycznie te dwa rodzaje są niezależne od siebie, to w większości współczesnych modeli występuje kombinacja ich obu. Przykładowo skóra, na którą nałożono roztwór kapsaicyny stanie się bardziej wrażliwa na ciepło (pierwotna hiperalgeza). Wokół stymulowanego obszaru rozwinię się dodatkowo wtórna hiperalgeza i alodynia, jako wykładniki ośrodkowej sensytyzacji.

Sensytyzacja obwodowa może być wywołana mediatorami zewnętrznymi i wewnętrznymi. Najpowszechniejszym z zewnętrznych jest kapsaicyna. Aktywuje receptory TRPV1 i uwrażliwia zakończenia nerwowe na ciepło. Podobnie działa olejek gorczyczny, który prawdopodobnie również uwrażliwia receptory TRPV1. W przeciwieństwie do nich miejscowe zastosowanie mentolu działa na receptory TRPM8, co powoduje obniżenie progu bólu na zimno⁵³.

Działanie mediatorów wewnętrznych obserwujemy na przykładzie prostego modelu, w którym dwuminutowy, toniczny ucisk fałdu skóry powoduje miejscowe zapalenie, a co za tym idzie pierwotną hiperalgezę na powtarzane później bodźce mechaniczne⁵⁴.

2.3.4. Modele ośrodkowej sensytyzacji

Sensytyzacja ośrodkowa jest cechą charakterystyczną bólu neuropatycznego. Modele bólu wykorzystywane w badaniach u zdrowych ochotników są w stanie wywołać to zjawisko za pomocą bodźców elektrycznych, termicznych i chemicznych. Jest ono jednak krótkotrwałe, a ideałem byłby model, który prowokując długotrwałe uwrażliwienie jednocześnie nie powoduje uszkodzenia tkanek.

Najpowszechniej stosowane są podskórne lub śródskórne wstrzyknięcia kapsaicyny lub hipertonicznego roztworu chlorku sodu, które oprócz pierwotnej hiperalgezji i rumienia w miejscu wstrzyknięcia powodują obniżenie progu pobudliwości receptorów w promieniu kilku centymetrów, a co za tym idzie wtórną hiperalgezię i alodynię^{55,56}.

Podobnie działa miejscowe stosowanie bodźców ciepłych na skórę za pomocą termod. Dzięki systemom takim jak CHEPS możliwa jest selektywna stymulacja włókien A- δ i C. Temperatura przykładanych do skóry płytek najczęściej mieści się w zakresie 45-55° C. Stosowane są różne wzorce stymulacji: stała temperatura 45-49° C przez 3 do 5 minut, stopniowe zwiększanie temperatury od temperatury podstawowej 30° C aż do osiągnięcia progu bólu, stosowanie krótkich, powtarzalnych impulsów o temperaturze bliskiej lub przekraczającej próg bólu (najczęściej 55°C). Poza obwodową sensytyzacją w miejscu przyłożenia płytki, obszar wokół niej wykazuje zwiększoną wrażliwość na ukłucie filamentami von Freya i na dotyk⁵⁷.

Ciekawym sposobem na przedłużenie wtórnej hiperalgezji wokół stymulowanego ciepłem obszaru jest potencjalizacja jego działania przez kapsaicynę⁵⁸.

Stymulacja bodźcem o temperaturze 45° C przez 5 minut jest wystarczająca do uwrażliwienia nocyceptorów obwodowych i wywołania krótkotrwałej sensytyzacji ośrodkowej.

Natychmiastowe nałożenie na uwrażliwione miejsce kapsaicyny w stężeniu 0.075 % dodatkowo aktywuje i uwrażliwia nocyceptory, co wzmacnia i przedłuża ośrodkową sensytyzację. Powtarzany później co 40 minut łagodny bodziec ciepły (40° C przez 5 minut) aktywuje już uwrażliwione obwodowe receptory bólu i wzmacnia stymulację bólową w rdzeniu kręgowym, co wystarcza do utrzymania sensytyzacji ośrodkowej przez okres 4 godzin.

Bardzo dobre efekty przyniosło zastosowanie w badaniach zimna. Według autorów francuskich, którzy na 8 sekund przykładali do przedniej powierzchni przedramienia miedzianą sztabkę o temperaturze -28° C i wywoływali odmrozenie Igo stopnia, niska temperatura powodowała powstawanie stałego obszaru pierwotnej i wtórnej hiperalgezji, który utrzymywał się nawet do 72 godzin⁵⁹. W modelu tym, w przeciwieństwie do modeli korzystających z wysokiej temperatury, nie obserwowano, poza momentem stymulacji, samoistnego bólu, a jedynym objawem niepożądanym było przebarwienie skóry, który znikало po kilku tygodniach.

Kolejną grupą bodźców, która ze względu łatwość aplikacji i natychmiastową odwracalność wydawałaby się idealna do wywoływania reakcji nocyceptywnej, są bodźce elektryczne. Zmiana natężenia, częstotliwości, czasu trwania bodźca pozwala selektywnie pobudzać

włókna dośrodkowe różnego kalibru, a co za tym idzie wywoływać różne rodzaje bólu. Mogą one być dostarczane poprzez elektrody domięśniowe, śródskórne lub naskórne. Inwazyjny charakter modeli domięśniowych i śródskórnych (konieczność stosowania sterylnych igieł lub chirurgicznego wytwarzania mikrootworów w naskórku) sprawia, że najbardziej praktyczne wydaje się stosowanie samoprzylepnych elektrod naskórkowych. Ciekawą alternatywą jest, niedawno opisany, system o nazwie High Voltage Pain Stimulator, którego zasada działania opiera się na wytwarzaniu nanosekundowych impulsów elektrycznych o charakterze wyładowań elektrostatycznych o bardzo wysokim napięciu, dochodzącym do 8000 V ⁶⁰. Wszystkie z wyżej opisanych systemów opartych na przepływie prądu są stosowane od wielu lat w badaniach nad mechanizmami sensytyzacji. Głównym ich mankamentem jest bardzo krótki czas, w którym można obserwować cechy bólu patologicznego w otaczającej tkance. Próby wydłużenia czasu działania tych modeli polegają na skojarzeniu stymulacji elektrycznej ze śródskórną iniekcją kapsaicyny lub zastosowaniu bodźca o wysokiej częstotliwości w postaci krótkich salw (5 jednosekundowych salw prądu o natężeniu 2 mA, o częstotliwości 100 Hz) ⁶¹.

Neuropatyczne zespoły bólowe są wybitnie heterogenne i dlatego zastępcze modele bólu dają unikalną okazję analizy pojedynczych objawów w kontrolowanych warunkach u zdrowych ochotników. Służą one często za pewnego rodzaju pomost pomiędzy badaniami na zwierzętach a badaniami klinicznymi u chorych ludzi. Wiele z modeli testowanych na zwierzętach jest następnie stosowanych u ochotników w celu przewidywania skuteczności leków u konkretnej grupy pacjentów i przyspieszania badań nad nimi.

Trzeba jednak podkreślić, że są one jedynie namiastką tak złożonego zjawiska, jakim jest ból neuropatyczny. Nie istnieją do tej pory modele, które oddawałyby całą złożoność jego patofizjologii. Na szczęście jesteśmy w stanie mierzyć różne komponenty, które razem składają się na zjawisko określane mianem bólu neuropatycznego. Główną zaletą ludzkich modeli bólu jest możliwość rejestrowania natężenia i charakteru bólu. W przeciwieństwie jednak do badań na zwierzętach, u ludzi wykluczone są metody inwazyjne, takie jak bezpośrednie pomiary z rogów tylnych rdzenia kręgowego. Ze względów etycznych nie mogą być również przeprowadzane badania, w których dochodzi do trwałych obrażeń tkanek lub uszkodzenia nerwu. U ludzi musimy polegać na subiektywnej ocenie badanego, na którą może wpływać wiele czynników niezwiązanych z nocycepcją. Dlatego w miarę możliwości należy stosować bodźce, które wywołują wyraźny ból, a także zaznaczać wpływ bodźców niebolesnych na rejestrowane parametry.

Badając ból u ludzi musimy zdać sobie sprawę z faktu, że w rzeczywistości próbujemy zgłębić złożony, wielowymiarowy układ. Badanie odpowiedzi na pojedynczy bodziec przedstawia jedynie cząstkę złożonego doświadczenia, jakim jest ból. Poza tym anestetyki i analgetyki działają na różne drogi przewodzenia bólu. Dlatego jedynie wielowymiarowe badania, w skład których wchodzi różne rodzaje bodźców (elektryczne, termiczne, chemiczne, itd.) pozwolą na wyciągnięcie kompletnych wniosków. Każdy dodatkowy bodziec i każda nowa metoda zwiększa ilość informacji uzyskanych z badania, ale z drugiej strony utrudnia także interpretację danych.

2.3.5. Ocena bólu eksperymentalnego

Odpowiedź na bodziec bólowy może być oszacowana poprzez techniki psychofizyczne, elektrofizjologiczne i obrazowe.

Ocena psychofizyczna określa związek pomiędzy natężeniem bodźca a tym, jak jest postrzegany. Pozwala ona ocenić takie parametry, jak próg detekcji bodźca, próg bólu, próg tolerancji bólu. Jej wadą jest duża subiektywność odpowiedzi oraz niemożność jej stosowania u zwierząt lub u badanych poddanych znieczuleniu ogólnemu. Najczęściej stosowane skale to skala wzrokowo-analogowa (VAS), skala oceny liczbowej (NRS), kwestionariusze Melzacka i McGilla, które pozwalają ocenić cechy jakościowe bólu⁶².

Ocena elektrofizjologiczna, do której należą ocena odruchów nocyceptywnych za pomocą elektromiografii i mózgowych potencjałów wywołanych, nie zależy od subiektywnych odpowiedzi badanego, pozwala ilościowo ocenić ból i może być zastosowana podczas znieczulenia ogólnego^{43,62,63}.

Techniki obrazowania wykorzystywane są do badania dróg przewodzenia bólu i struktur odpowiedzialnych za przetwarzanie bodźców bólowych. Do najczęściej wykorzystywanych należą fMRI BOLD i PET, które badają zmiany w regionalnym przepływie krwi w ośrodkowym układzie nerwowym w odpowiedzi na bodziec uszkodzający^{64,65}.

3. Cele badania

1. Ocena możliwości wywołania zjawiska sumowania czasowego u zdrowych ochotników.
2. Ocena zależności pomiędzy natężeniem a częstotliwością bodźca koniecznego do wywołania zjawiska sumowania czasowego.
3. Ocena powtarzalności zjawiska u zdrowych ochotników dla każdej z zastosowanych częstotliwości.
4. Ocena tolerancji zdrowych ochotników na zastosowany model bólu.
5. Ocena możliwości wykorzystania modelu w badaniach nad bólem przewlekłym i skutecznością nowych leków przeciwbólowych.

4. Dobór ochotników i metodyka badań

Badanie przeprowadzono w ramach działalności Pain Clinical Research Hub przy Instytucie Psychiatrii King's College w Londynie po uprzednim uzyskaniu zgody od Komitetu Etycznego szpitala King's College Hospital, Denmark Hill, Londyn, Wielka Brytania. (numer referencyjny zgody 06/Q0703/05). Uchwałą nr 459/11 z dnia 12 maja 2011 r. Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wyraziła zgodę na opracowanie wyników badania na potrzeby pracy doktorskiej.

4.1. Ochotnicy

W badaniu wzięło udział 12 zdrowych ochotników płci męskiej w wieku 22-47 lat. Średnia wieku 30 lat i 11 miesięcy. Liczbę ochotników ustalono na podstawie przeprowadzonych wcześniej przez autora badań pilotażowych nad powtarzalnością progów bólu dla pojedynczego bodźca, które wykazały, że taka liczebność grupy badanej jest wystarczająca do przeprowadzenia analizy statystycznej.

4.2. Kryteria włączenia do badania

- Zdrowi mężczyźni w wieku 18-50 lat
- Osobnicy, których językiem ojczystym był język angielski lub którzy, w opinii badacza, porozumiewali się nim w stopniu umożliwiającym zrozumienie Karty Informacyjnej, Karty Zgody Uświadomionej oraz poleceń badacza w trakcie przeprowadzania badania

4.3. Kryteria wyłączenia z badania

- Osobnicy z chorobą ogólnoustrojową lub dotyczącą układu nerwowego
- Osobnicy z bólem ostrym lub przewlekłym
- Osobnicy przyjmujący leki przeciwbólowe przewlekle lub którzy przyjęli lek przeciwbólowy doraźnie w przeciągu 24 godz. przed rozpoczęciem badania
- Osobnicy uzależnieni od alkoholu lub narkotyków
- Osobnicy, co do których istniało podejrzenie, że nie będą w stanie wykonywać poleceń badacza w trakcie badań

4.4. Schemat badania

Badanie składało się z dwóch sesji przeprowadzonych w odstępie co najmniej 7 dni. Stosowano przezskórne, pojedyncze bodźce elektryczne prądu stałego o prostokątnym wykresie fali i o czasie trwania 1 ms, wytworzone przez urządzenie „Constant Current Stimulator DS7 A” firmy Digitimer Ltd. z Wielkiej Brytanii. Urządzenie to spełniało kryteria

dyrektywy Unii Europejskiej MDD 93/42/EEC dla urządzeń mających zastosowanie w medycynie. Współpracowało ono z zewnętrznym, kontrolowanym przez komputer, generatorem serii bodźców „Train/Delay Generator” wymienionej wyżej firmy Digitimer Ltd. (ryc.3).

Bodźce były dostarczone przez samoprzylepne elektrody umiejscowione w odległości 2 cm od siebie, na skórze za prawą kostką boczną. Przed założeniem elektrod skórę oczyszczano alkoholowym roztworem odkażającym. Stymulowany był prawy nerw łydkowy.

Na początku każdej wizyty określano próg detekcji bodźca (DT) oraz próg bólu (EPT) dla pojedynczego bodźca. W tym celu dostarczano pojedyncze bodźce o czasie trwania 1 ms, których natężenie wzrastało co 15 s o 1mA. By uściślić pomiar, po osiągnięciu badanego progu, o 25% redukowano natężenie prądu, a natężenie kolejnych bodźców wzrastało o 0.5 mA.

Jako próg detekcji bodźca określano najniższe natężenie prądu odczuwane przez ochotnika.

Jako próg detekcji bólu określano najniższe natężenie prądu, przy którym ochotnik zgłaszał ból.

Pomiary były powtarzane trzykrotnie, a z uzyskanych wyników obliczano średnią arytmetyczną. Pomiedzy seriami pomiarów zachowano 5 minutową przerwę w celu uniknięcia habituacji.

Sumowanie czasowe wywoływano serią 5 bodźców, o czasie trwania 1 ms każdy. Były one dostarczane z częstotliwością 0.1 Hz, 0.3 Hz, 0.5 Hz, 1.0 Hz, 3.0 Hz, 5.0 Hz, 10.0 Hz.(tab.II). Liczba bodźców i zakres zastosowanych częstotliwości zostały wybrane w oparciu o wyniki wcześniejszych badań, według których nie obserwowano nasilenia zjawiska lub nawet występowało jego osłabienie, gdy stosowano więcej niż 5-10 bodźców, a częstotliwość ich aplikacji przekraczała 20 Hz^{28,43}.

Natężenie bodźców było znormalizowane do uprzednio określonego progu detekcji bólu i wahało się od 10 do 180 %. Jako próg sumowania czasowego (tsPDT) określano natężenie prądu, przy którym dla danej częstotliwości, pierwszy bodziec nie sprawiał bólu, a ostatni określany był jako bolesny. Gdy ochotnik nie był w stanie rozróżnić pierwszego i ostatniego bodźca proszono go o określenie, czy cała seria 5 bodźców była bolesna.

Częstotliwość i natężenie stymulacji były wybierane losowo, a stymulacja powtarzana do czasu osiągnięcia progu bólu dla każdej z zastosowanych częstotliwości. Między seriami robiono 60 sekundowe przerwy, by uniknąć zjawiska habituacji. Procedura ta była

powtarzana trzykrotnie, a następnie obliczano średnią arytmetyczną progów sumowania czasowego dla każdej częstotliwości.

4.5. Ocena bólu

Ochotnicy oceniali ból za pomocą wzrokowej, analogowej skali bólu VAS. Zakres skali mieścił się między 0 (brak bólu) a 10 (najgorszy do wyobrażenia ból).

4.6. Analiza statystyczna

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu GenStat 8th Edition firmy VSN International Ltd. z Wielkiej Brytanii.

Wykresy kratowe. Na wykresy naniesiono zależności między częstotliwością a logarymicznie przekształconymi wartościami natężenia prądu (ryc.5), częstotliwością a wyrażonym w procentach stosunkiem tsPDT/ EPT (%EPT) (ryc.6) oraz częstotliwością a logarymicznie przekształconym natężeniem jako procentem progów bólu (ryc.7). Dodatkowe wykresy porównują EPT z tsPDT dla częstotliwości 10 Hz (ryc.8) i 0.5 Hz (ryc.9)

Wykresy powtarzalności. W celu wykazania zmienności wewnątrz- i międzyosobniczej pomiędzy dwoma wizytami na wykresach przedstawiono logarymicznie przekształcone wartości natężenia prądu (ryc.10) oraz współczynnika natężenie prądu/próg bólu (ryc.11) dla każdej częstotliwości.

Analiza modelu mieszanego. Dla każdej ze zastosowanych częstotliwości wykonano dwie oddzielne analizy. Pierwszą oparto jedynie na bezwzględnych wartościach natężenia prądu dla progów bólu (EPT). Użyto w niej modelu mieszanego z osobnikiem jako efektem losowym i wizytą jako efektem stałym, a wartości natężenia prądu zostały wcześniej zlogarytmowane. W drugiej analizie próg bólu służył za punkt odniesienia dla progów sumowania czasowego bólu (ts PDT/ EPT), a użyto w niej modelu mieszanego z osobnikiem jako efektem zmiennym i wizytą jako efektem stałym. Przed wykonaniem analizy statystycznej zlogarytmowano wartości współczynnika ts PDT/ EPT.

Ocena powtarzalności. W celu oceny powtarzalności zjawiska obliczono współczynnik korelacji międzyklasowej ICC (tab.IV i V). Pozwala on ocenić, w jakim stopniu za całkowitą zmienność jest odpowiedzialna jej składowa międzyosobnicza i wyliczany jest ze wzoru $ICC = \frac{\text{zmienność międzyosobnicza}}{\text{zmienność międzyosobnicza} + \text{zmienność wewnątrzosobnicza}}$. Uważa się, że wartości ICC wyższe niż 0.75 świadczą o doskonałej powtarzalności. Jeżeli ICC mieści się w zakresie 0.4-0.75 powtarzalność jest dobra, mniejsze wartości wskazują na słabą powtarzalność ⁶⁶.

Obliczanie liczebności próby.

Otrzymane dane posłużyły także do oceny liczebności próby badania naprzemiennego (crossover) wymaganej, by z prawdopodobieństwem 0.80 wykryć zmianę z dwustronnym 5% poziomem istotności, jeśli średnia zmiana wyniesie 25 lub 50 % różnicy między EPT i ts PDT. Różnica EPT-tsPDT została wybrana z dwóch powodów. Po pierwsze, w badaniach nad lekami EPT może służyć jako górna granica skuteczności leku. Należy jednak pamiętać, że EPT może zostać zmieniony przez samą chorobę lub zastosowane leczenie. Po drugie, wartość absolutna oczekiwanej zmiany rośnie ze wzrostem różnicy pomiędzy EPT i tsPDT, co obserwujemy zwiększając częstotliwość stymulacji. 25 % zmiana w średnim natężeniu prądu dla częstotliwości od 3 do 10 Hz odpowiada wartości absolutnej natężenia mieszczącej się pomiędzy 1 a 2 mA, a zmiana 50 % odpowiada wartości absolutnej natężenia w zakresie 2 do 3 mA. (tab. VII i VIII)

5. Wyniki

5.1. Sumowanie czasowe

U wszystkich ochotników wywołano zjawisko sumowania czasowego, określono jego wartość progową i zależność między natężeniem a częstotliwością.

Wartości średnich arytmetycznych dla wszystkich ochotników wykazały, że zjawisko to występuje przy częstotliwości stymulacji wyższej niż 0.3 Hz (ryc.4, tab.III, tab.VI). Dla częstotliwości niższych od 0.3 Hz tsPDT było wyższe niż wcześniej określony próg bólu.

Przy zastosowaniu bodźców o częstotliwości 10 Hz u wszystkich poddanych badaniu tsPDT było niższe niż EPT (ryc.8). Z drugiej strony tylko u nielicznych udało się wywołać sumowanie czasowe bólu przy stymulacji częstotliwością 0.5 Hz, co potwierdza poziomy lub nawet wznoszący charakter krzywych przedstawionych na ryc.9.

Zaobserwowano również odwrotną zależność między natężeniem prądu a częstotliwością. Wraz ze wzrostem częstotliwości sumowanie czasowe wywoływane było bodźcami o coraz niższym natężeniu (tab.III, tab.VI). Ta zależność jest również przedstawiona na ryc. 4, która przedstawia natężenie prądu jako procent EPT. Na ryc. 7 zobrazowany jest zlogarytmowany współczynnik $tsPDT/EPT$. Ujemne wartości współczynnika występują, gdy $tsPDT < EPT$ (co oznacza, że udało się wywołać sumowanie czasowe), a bliskie zero gdy ich wartości są zbliżone. Dla niskich częstotliwości (0.1 i 0.3 Hz) obserwowano dodatnie wartości tego współczynnika, tzn. $tsPDT > EPT$. Może to oznaczać, że dla danych częstotliwości występuje zjawisko habituacji, tzn. konieczności stosowania natężeń prądu wyższych niż próg bólu.

Analizując wygląd krzywych obrazujących zależność progu bólu od zastosowanej częstotliwości (ryc.5, ryc.6, ryc.7) należy stwierdzić, że u wszystkich badanych mają one podobny kształt, z charakterystycznym plateau dla częstotliwości 5-10 Hz. Oznacza to, że zwiększanie częstotliwości powyżej 5Hz powoduje tylko niewielki spadek progu bólu.

5.2. Powtarzalność

Przedstawione w tab.IV i w tab.V dane wskazują, że za całkowitą zmienność obserwowaną w badaniu odpowiedzialna jest przede wszystkim zmienność międzyosobnicza, która przyjmowała wartości wyższe niż zmienność wewnątrzosobnicza. Na uwagę zasługuje fakt, że wartości tej ostatniej były zbliżone dla każdej ze zastosowanych częstotliwości.

Różnice pomiędzy dwiema wizytami w natężeniu prądu wywołującym ból okazały się być niższe, gdy były obliczane na podstawie zlogarytmowanego wskaźnika $tsPDT/EPT$, co ilustrują bardziej poziome przebiegi wykresów indywidualnych zmienności progu sumowania czasowego w porównaniu do zlogarytmowanych wartości natężenia prądu (ryc.10 i ryc.11).

Potwierdzają to niższe wartości wskaźnika zmienności wewnątrzsobniczej uzyskane dla $\log tsPDT/EPT$ w porównaniu do $\log tsPDT$ (tab. IV i tab. V).

Współczynnik korelacji wewnątrzklasowej ICC obliczony dla każdej z badanych częstotliwości wykazywał doskonałą powtarzalność, gdy do obliczeń używano zlogarytmowanych wartości natężenia prądu (tab.IV). Przy użyciu wskaźnika $tsPDT/EPT$ jedynie dla częstotliwości 3-10 Hz uzyskano doskonałą powtarzalność. Dla niższych była ona jedynie dobra lub słaba (tab.V).

5.3. Liczebność próby.

Dla każdej z zastosowanych częstotliwości przeprowadzono dwie oddzielne analizy. Pierwsza oparta była jedynie na wartościach bezwzględnych $tsPDT$, a w drugiej użyto EPT jako punktu odniesienia dla $tsPDT$. Każda z nich może być użyta, by odpowiedzieć na różne pytania.

W pierwszym punkcie końcowym $tsPDT$ będzie miarą całkowitego poziomu bólu, czyli bólu spowodowanego sumowaniem czasowym i jakkolwiek inną komponentą bólową.

Drugi punkt końcowy, stosunek $tsPDT$ do EPT, będzie miarą bólu spowodowanego zjawiskiem sumowania czasowego w stosunku do bólu spowodowanego pojedynczym bodźcem bólowym o natężeniu progowym.

Przesłanką do użycia drugiej metody jest fakt, że w przypadku gdyby EPT i $tsPDT$ zmieniały się w takim samym stopniu pomiędzy wizytami, opieranie analizy statystycznej na zlogarytmowanych wartościach $tsPDT/EPT$ zmniejszy zmienność wewnątrzsobniczą, a co za tym idzie liczebność próby w przyszłych badaniach.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej stwierdzono, że liczebność próby konieczna do wykrycia zarówno 50%, jak i 25 % zmiany znacznie zmniejszała się przy zastosowaniu wyższych częstotliwości stymulacji (powyżej 3 Hz). Wyniki te ulegały kolejnej poprawie, gdy zamiast wartości $\log tsPDT$ zastosowano zlogarytmowane wartości $tsPDT/EPT$ (tab. VII i VIII).

By wykryć 25 % zmianę z prawdopodobieństwem 0.8 po stymulacji z częstotliwością 10 Hz potrzebnych byłoby jedynie 14 ochotników, gdyby do analizy użyć $\log tsPDT/EPT$. Używając zlogarytmowanych wartości bezwzględnych $tsPDT$ potrzebnych byłoby 54 badanych.

5.4. Tolerancja zastosowanego modelu

Wszyscy ochotnicy ukończyli badanie, żaden nie wycofał się z powodu nadmiernej stymulacji bólowej. Nie zaobserwowano obrażeń skóry, żaden z uczestników nie poinformował o odległych skutkach zastosowanej stymulacji elektrycznej.

6. Dyskusja

Dogłębne zrozumienie mechanizmów biorących udział w powstawaniu bólu przewlekłego jest kluczem do jego efektywnego leczenia. Możliwość obiektywnej oceny bólu zawsze była marzeniem naukowców zajmujących się tym tematem. Jednak ból jest zjawiskiem wielowymiarowym i nie może być opisany lub przedstawiony jedynie za pomocą prostych parametrów lub liczb. Istniejące eksperymentalne modele bólu pozwalają ocenić ilościowo i jakościowo różne mechanizmy zaangażowane w to złożone zjawisko. Mechanizmem, który w ostatnich latach przyciągał uwagę badaczy jest uwrażliwienie neuronów ośrodkowych. Był on badany zarówno w modelach zwierzęcych, jako zjawisko „wind-up”, jak i w modelach ludzkich sumowania czasowego. „Wind-up” po raz pierwszy opisano ponad 30 lat temu, jako narastającą aktywację neuronów rogów tylnych rdzenia kręgowego następującą po powtarzanej stymulacji zakończeń włókien C. Odpowiednikiem tego zjawiska u ludzi jest sumowanie czasowe, które może odpowiadać za wiele z objawów bólu neuropatycznego oraz za przejście bólu ostrego w ból przewlekły.

Zjawiska te opisywane były wcześniej dla bodźców elektrycznych, mechanicznych, termalnych i chemicznych. Po raz pierwszy jednak w tym badaniu zastosowano szeroki zakres częstotliwości stymulacji (od 0.1Hz do 10 Hz) oraz określono powtarzalność zjawiska dla grupy ochotników biorących udział w dwóch sesjach badania za pomocą współczynnika korelacji wewnątrzklasowej ICC.

Przeprowadzone przeze mnie badanie dowiodło, że możliwe jest wywołanie zjawiska sumowania czasowego bólu poprzez zastosowanie przezskórnych bodźców elektrycznych o odpowiedniej częstotliwości. Jest to zgodne z wynikami wieloletnich badań Larsa Arendta-Nielsen, który analizując podstawy patofizjologiczne sensytyzacji ośrodkowej wielokrotnie korzystał modeli bólu opartych na stymulacji przezskórnej prądem elektrycznym ^{34,68,69}.

Moje badanie potwierdziło, że częstotliwość 0.3 Hz jest częstotliwością progową dla wystąpienia zjawiska sumowania czasowego. Jest to wartość, którą uzyskał po raz pierwszy Donald Price w swoich klasycznych badaniach z początku lat 70-tych ubiegłego stulecia²⁷. Została ona wielokrotnie potwierdzona w licznych pracach opublikowanych od tamtego czasu do dnia dzisiejszego ^{29,33,34}. Należy jednak podkreślić, że jest to wartość średnia dla całej grupy badanej i osobniczo bardzo zmienna. W moim badaniu nie u wszystkich ochotników przy stymulacji bodźcami o częstotliwości 0.5 Hz wystąpiło sumowanie czasowe, a prawdopodobieństwo jego wywołania wzrastało wraz z częstotliwością. Jest to najprawdopodobniej spowodowane niską inwazyjnością zastosowanej przezskórnej

stymulacji elektrycznej - w przeciwieństwie do eksperymentu Price'a, który do oceny zjawiska używał bezpośrednich zapisów elektrofizjologicznych z rdzenia kręgowego. Problem ten dostrzegli również inni badacze, którzy dla wywołania sumowania czasowego używają częstotliwości co najmniej 1 Hz^{28,43,69,70}.

Zaobserwowałem również, że dla częstotliwości niższej od 0.3 Hz wystąpił efekt odwrotny. Przy stymulacji z częstością jednego bodźca na 10 sekund nastąpiło podwyższenie progu bólu. Na podstawie dostępnej literatury mogę wysunąć przypuszczenie, że w tym przypadku doszło do habituacji spowodowanej długoterminowym tłumieniem synaptycznym (LTD, Long-term Depression). Zjawisko to, początkowo opisywane w badaniach nad uczeniem się i pamięcią, polega na długotrwałej hipoalgezji w miejscu stymulowanym prądem o niskiej częstotliwości⁶¹. Prawdopodobnie leży ono u podstawy efektywności działania przeciwbólowego przezskórnej elektrostymulacji nerwów o niskiej częstotliwości i wysokim natężeniu prądu (L-F TENS), która powoduje aktywację endogennego opioidowego układu antynoceptywnego^{2,67}. Obserwacja ta jest kolejnym dowodem na występowanie delikatnej równowagi pomiędzy systemami aktywującymi i hamującymi w procesie percepcji bólu.

Wyniki mojej pracy wykazały związek między częstotliwością zastosowanej stymulacji a natężeniem bodźca wywołującego ból. Jest to obserwacja zbieżna z wynikami badań o podobnej metodyce przeprowadzanych przez Arendt-Nielsen i Bajaja na zdrowych ochotnikach z wykorzystaniem przezskórnych bodźców elektrycznych^{28,43}. Opisywali oni spadek natężenie prądu koniecznego do osiągnięcia progu bólu lub większą intensywność bólu, gdy zwiększana była częstość stymulacji. Niewątpliwą przewagą wyżej wymienionych prac było zastosowanie, oprócz oceny psychofizycznej bólu, zapisów elektromiograficznych (EMG) z mięśni uda, co pozwoliło zobjektywizować odpowiedzi udzielane przez badanych. Badacze ci zwrócili uwagę, że rejestrowane przez zapisy EMG narastanie intensywności odruchu wycofania zostało opisane już przez Price'a w badaniach na kotach²⁷. Zgadza się to z odkryciem Mendella, który wykazał narastanie aktywności neuronów rogów tylnych rdzenia przy stymulacji nerwu łydkowego z częstotliwością wyższą niż 1-2 Hz³¹.

Bajaj w swojej pracy obserwuje „wysycenie” zjawiska przy 5 Hz, co objawiło się brakiem wzrostu lub nawet spadkiem intensywności odczuwanego przez badanych bólu przy zastosowaniu wyższych częstotliwości. W moim badaniu odpowiada to fazie plateau wykresów zależności tsPDT/EPT od częstotliwości, na których wzrost częstości z 5 do 10 Hz powoduje jedynie niewielki spadek progu bólu. Według autora jest to spowodowane aktywacją przeciwbólowego systemu hamującego, podobną do tej, którą obserwuje się używając TENS o wysokiej częstotliwości (30-100 Hz). Niższą częstotliwość habituacji w

swoim badaniu (20 Hz) tłumaczy mniejszą, w porównaniu ze standardowymi elektrodami TENS, powierzchnią zastosowanych elektrod, która spowodowała powstanie pola o wyższym natężeniu prądu.

Zastosowanie eksperymentalnych modeli bólu w badaniu krzyżowym (cross-over) daje unikalną możliwość całościowej oceny skuteczności leków przeciwbólowych. Idealny model zastosowany w takim badaniu musiałby wykorzystać różne rodzaje bodźców, by aktywować jak najszersze spektrum receptorów. Próbę taką podjęła Camilla Staahl i współpracownicy w eksperymencie, podczas którego zdrowi ochotnicy poddani byli działaniu bodźców mechanicznych, cieplnych i elektrycznych dostarczanych przezskórnie, domięśniowo i poprzez multimodalną stymulację przełyku. Ich powtarzalność oceniona została w tym samym dniu i po upływie tygodnia⁷¹. Według autorów jedną z najlepszych powtarzalności cechował się model elektrycznej stymulacji przezskórnej prądem o częstotliwości 2 Hz, którego ICC dla prób powtarzanych tego samego dnia wyniósł 0.99. Dla prób oddzielonych 7 dniami przerwy zanotowano niewielki wzrost zmienności wewnątrzsobniczej, który skutkowałam spadkiem ICC do 0.96. Jest to wartość zbliżona do wyniku uzyskanego w moim badaniu dla częstotliwości 3 Hz, której ICC równał się 0.86. Bardzo zbieżne wyniki uzyskano także dla liczebności próby. W wyżej wymienionej pracy liczebność próby konieczna dla wykrycia 30% redukcji wartości średniej wyniosła 33.

Zaprezentowany przeze mnie model bólu cechuje się powtarzalnością porównywalną z modelami opartymi na bodźcach o innej charakterystyce np. z opisanym przez Cathcarta i współpracowników wzorcem stymulacji bodźcami mechanicznymi⁷². Za pomocą algometru wywoływali oni sumowanie czasowe na ręku i ramieniu uzyskując wartości ICC mieszczące się w zakresie 0.59-0.86. Podobnie dobre wyniki uzyskał Hughes stosując wstrzyknięcie kapsaicyny w skórę brzusznej strony przedramienia⁷³. W tym przypadku wyliczona liczebność próby konieczna dla wykrycia 50 % zmiany w powierzchni alodynii wyniosła 12 osób. Z drugiej strony największą zmiennością cechują się modele oparte na stymulacji przełyku, których liczebność próby może sięgać nawet 300⁷¹. Jest to więc wynik, który w moim badaniu uzyskałam dla najsłabiej powtarzalnych niskich częstotliwości.

Biorąc pod uwagę dużą indywidualną zmienność progu bólu w populacji ogólnej⁷⁴, można stwierdzić, że wewnątrz- i międzysobnicza zmienność tego parametru u ochotników biorących udział w tym badaniu była niska. Udało mi się także wykazać dobrą powtarzalność tsPDT dla wszystkich badanych częstotliwości. Najwyższy współczynnik powtarzalności wykazano dla częstotliwości 10 Hz. Jednakże analiza amplitudy wartości progów sumowania czasowego sugeruje, że w przyszłych badaniach nie powinny być stosowane częstotliwości

niższe niż 3 Hz, jeśli będą one miały na celu wykrywanie znaczących zmian po leczeniu farmakologicznym. Należy również wziąć pod uwagę fakt, że badana była homogenna grupa młodych, zdrowych ochotników. W przeciwieństwie do niej, pacjenci dotknięci przewlekłymi zespołami bólowymi stanowią o wiele bardziej różnorodną zbiorowość o prawdopodobnie większej zmienności badanych w tej pracy cech.

Eksperymentalne modele bólu, których charakterystyka była zbliżona do modelu przedstawionego w mojej pracy, zostały użyte do oceny profilu farmakokinetycznego i farmakodynamicznego leków z różnych grup np. opioidów⁷⁵, leków przeciwpadaczkowych⁷⁶ i blokerów kanału wapniowego⁷⁷.

Model bólu zastosowany w moim badaniu był dobrze tolerowany przez wszystkich ochotników biorących w nim udział. Żaden z zastosowanych w jego trakcie wzorców stymulacji nie wywołał bólu, który mieściłby się poza granicami tolerancji ochotników. Żaden z nich nie zgłosił również odległych efektów ubocznych przedstawionego modelu.

Zaprezentowany ekperymentalny model bólu pozwolił w sposób standaryzowany na aktywację układu nocyceptywnego i jakościowy pomiar uzyskanych odpowiedzi u badanych. Jest on prostym narzędziem służącym lepszemu zrozumieniu mechanizmów biorących udział w transdukcji, przekazywaniu i percepcji bólu u zdrowych ochotników. Uzyskane dane o powtarzalności zjawiska i liczebności grupy dają nadzieję na efektywne zastosowanie go w warunkach patologicznego przetwarzania bodźców u chorych z bólem. Może być on zastosowany w warunkach laboratoryjnych do badań podstawowych nad ośrodkową nadwrażliwością i w przesiewowych badaniach typu „weryfikacji koncepcji”

(proof-of-concept) nad skutecznością leków. Prostota wzorca badania i krótki czas badania czynią z niego również idealne narzędzie do badań klinicznych pacjentów z neuropatią. Jego głównymi zaletami są:

- dobra kontrola i brak zmienności w czasie natężenia, czasu trwania i charakterystyki bodźca
- odpowiedź na stymulację jest oceniana jakościowo i może być porównywana w czasie (ważne dla badania skuteczności leków)
- model może być zastosowany u zdrowych i chorych, co pozwoli na porównanie przetwarzania bólu w tych grupach
- może być użyty w dowolnym miejscu powierzchni ciała ludzkiego, dzięki czemu możliwe jest porównanie obszarów zdrowych z chorobowo zmienionymi

W prezentowanym modelu bólu zastosowano standaryzowane, kontrolowane warunki. Natężenie stymulacji, długość jej trwania i charakter zostały wcześniej określone i nie zmieniały się w czasie. Dzięki temu możliwa była rzetelna ocena odpowiedzi psychofizycznych u ochotników: progów detekcji bodźca, bólu i sumowania czasowego. W takich warunkach ochotnik może służyć za własną kontrolę i w ten sposób ograniczone są zmienność wewnątrzsobnicza i zmienność występująca z upływem czasu. Należy jednak pamiętać, że takie okoliczności są trudne do spełnienia w badaniach na chorych ze względu na współistniejące choroby, czynniki natury emocjonalnej, psychologicznej i kulturowej. Dużą rolę odgrywa też patologiczna reorganizacja układu nocyceptywnego, która może występować u chorych z przewlekłym bólem.

Ograniczeniem badanego przeze mnie modelu jest fakt, że nie symuluje on aspektów emocjonalnych i psychologicznych bólu. Poza tym zastosowano w nim proste bodźce przezskórne, podczas gdy ból kliniczny jest najczęściej bólem głębokim, nierzadko z komponentą zapalną. Obiektywizacji uzyskanych wyników pomogłoby zapewne użycie EMG lub elektroencefalografii (EEG). Głównym wyzwaniem na przyszłość jest stworzenie modelu, który będzie lepiej odzwierciedlał ból przewlekły.

W świetle przedstawionych danych zastosowany model bólu przyniesie najbardziej wiarygodne rezultaty, gdy spełnione będą wymienione poniżej warunki:

- stosowana jest częstotliwość 3-10 Hz
- dla analizy statystycznej używany jest log (tsPDT/EPT), jeżeli w trakcie każdej z wizyt określany jest próg bólu
- gdy niemożliwe jest określenie progu bólu w trakcie wizyt (np. badanie skuteczności leków) sugerowane jest posługiwanie się log tsPDT, gdyż zmieniony przez leczenie farmakologiczne próg bólu EPT nie może być odpowiednim punktem odniesienia
- ze względu na mniejszą od międzyosobniczej zmienność wewnątrzsobniczą dla obliczenia wielkości próby należy zastosować badanie naprzemienne/krzyżowe (cross over study)

Przedstawiony model sumowania czasowego jest efektywnym narzędziem jakościowego i ilościowego badania ośrodkowej sensytyzacji.

7. Wnioski

1. U wszystkich badanych ochotników wystąpiło zjawisko sumowania czasowego bodźców bólowych.
2. Sumowanie czasowe jest zależne od natężenia i częstotliwości zastosowanej stymulacji. Natężenie bodźca konieczne do wywołania bólu jest najniższe dla częstotliwości 10 Hz, a najwyższe dla częstotliwości 0.1 Hz.
3. U zdrowych ochotników zjawisko to było dobrze powtarzalne dla częstotliwości stymulacji wyższej niż 3 Hz.
4. Zaprezentowany model bólu był dobrze tolerowany przez biorących udział w badaniu ochotników.
5. Wyniki badań dają nadzieję na wykorzystanie modelu sumowania czasowego w przyszłych badaniach u pacjentów z bólem przewlekłym oraz w badaniach nad skutecznością leków przeciwbólowych.

8. Streszczenie

Jednym z mechanizmów biorących udział w powstawaniu bólu neuropatycznego jest sumowanie czasowe, które polega na intensywniejszym odczuwaniu bólu w konsekwencji stymulacji włókien nerwowych A- δ i C z częstotliwością wyższą niż 0.3 Hz. Celem badania było wywołanie zjawiska sumowania czasowego u zdrowych ochotników, ocena zależności pomiędzy natężeniem a częstotliwością bodźca koniecznego do wywołania zjawiska i ocena powtarzalności zjawiska.

Badanie, którym objęto 12 zdrowych ochotników płci męskiej składało się z dwóch sesji przeprowadzonych w odstępie co najmniej 7 dni. Stosowano przezskórne, pojedyncze bodźce elektryczne prądu stałego dostarczone przez samoprzylepne elektrody umiejscowione w odległości 2 cm od siebie, na skórze za prawą kostką boczną. Sumowanie czasowe wywoływano serią 5 bodźców, o czasie trwania 1 ms każdy. Były one dostarczane z częstotliwością 0.1 Hz, 0.3 Hz, 0.5 Hz, 1.0 Hz, 3.0 Hz, 5.0 Hz, 10.0 Hz. Jako próg sumowania czasowego określano natężenie prądu, przy którym dla danej częstotliwości, pierwszy bodziec nie sprawiał bólu, a ostatni określany był jako bolesny. Powtarzalność zjawiska określono za pomocą współczynnika powtarzalności wewnątrzklasowej ICC.

U wszystkich badanych ochotników wystąpiło zjawisko sumowania czasowego bodźców bólowych, które było zależne od natężenia i częstotliwości zastosowanej stymulacji. Natężenie bodźca konieczne do wywołania bólu było najniższe dla częstotliwości 10 Hz, a najwyższe dla częstotliwości 0.1 Hz. Zjawisko to było dobrze powtarzalne dla częstotliwości stymulacji wyższej niż 3 Hz.

9. Summary

Temporal summation is one of the mechanisms that take part in development of neuropathic pain and refers to more intense pain perception as a result of the A- δ and C nerve fibres stimulation at a frequency of at least 0.3 Hz. The aim of the present study was to evoke temporal summation in healthy volunteers, to investigate the relationship between stimulus intensity and frequency required to evoke the phenomenon and to evaluate its reproducibility. Twelve normal healthy male volunteers participated in the study that consisted of two sessions, separated by at least seven days. Single, percutaneous, constant current electrical pulses were delivered to the area behind the right lateral malleolus with two adhesive electrodes separated by 2 cm. Temporal summation was elicited by a train of 5, 1 ms long stimuli. They were delivered at a frequency of 0.1 Hz, 0.3 Hz, 0.5 Hz, 1.0 Hz, 3.0 Hz, 5.0 Hz, 10.0 Hz. Temporal summation threshold was described as the lowest repetitive stimulation intensity at which the first stimulus was not painful and the last one provoked pain. Reproducibility of the phenomenon was assessed by the intraclass correlation coefficient ICC. Temporal summation of pain was elicited in all volunteers that participated in the study. The phenomenon depended on both frequency and intensity of the applied stimulation. The intensity required to evoke pain was the lowest for a frequency of 10 Hz and the highest for a frequency of 0.1 Hz. The phenomenon was well reproducible for a frequency of stimulation higher than 3 Hz.

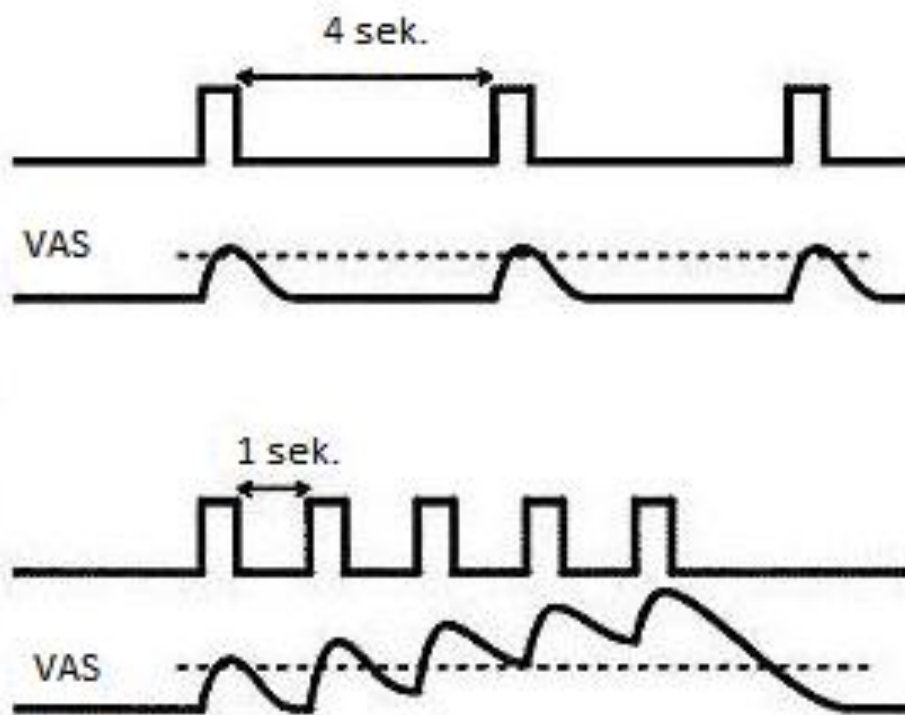
10. Ryciny i tabele

Rycina 1. Schemat drogi przewodzenia bólu przedstawiony przez R. Descartesa w dziele Tractatus de homine z 1664 r.

(<http://unitproj.library.ucla.edu/biomed/his/painexhibit/boyfire.htm>)



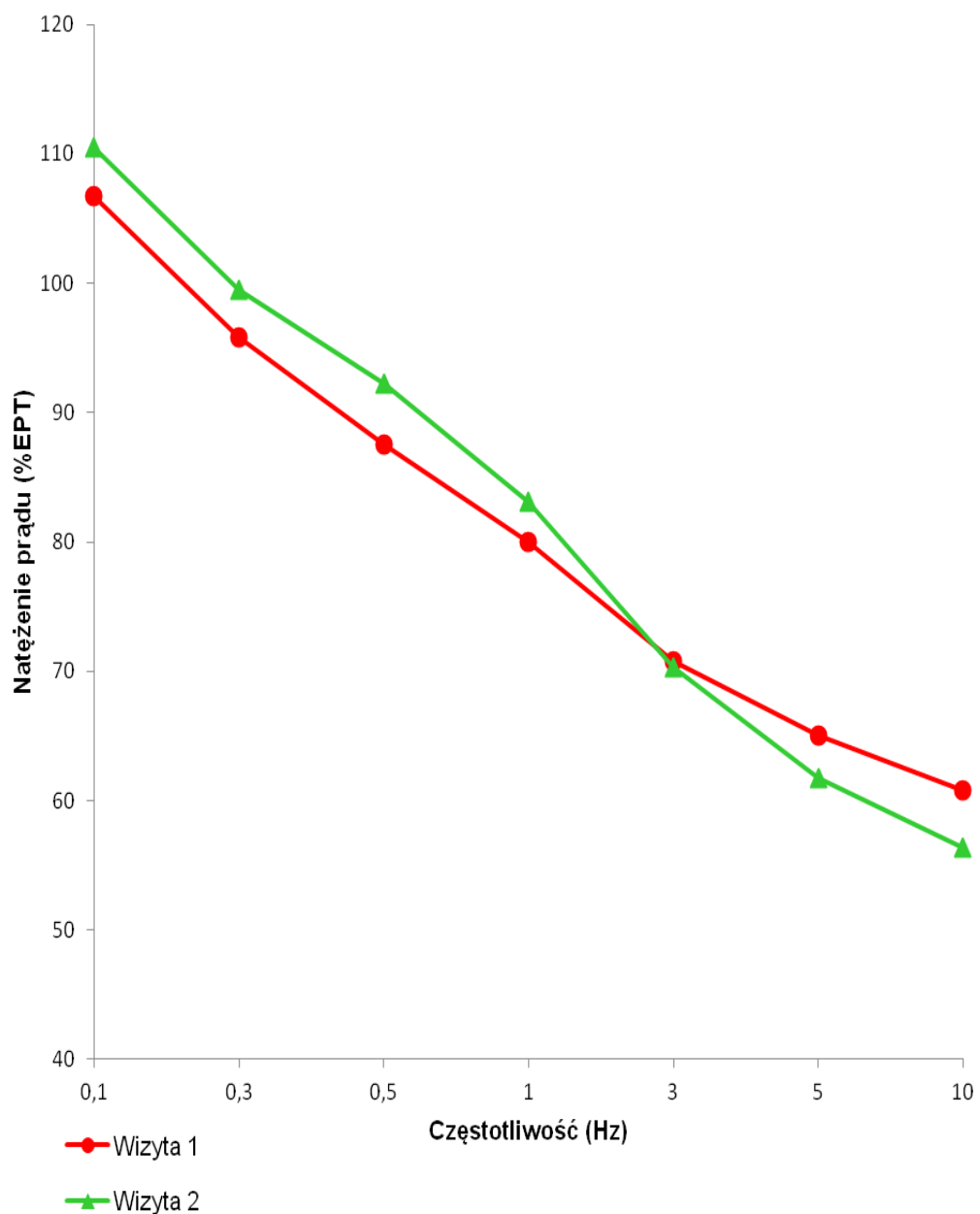
Rycina 2. Sumowanie czasowe jest wywoływane serią bodźców o częstotliwości wyższej niż 0,3 Hz.



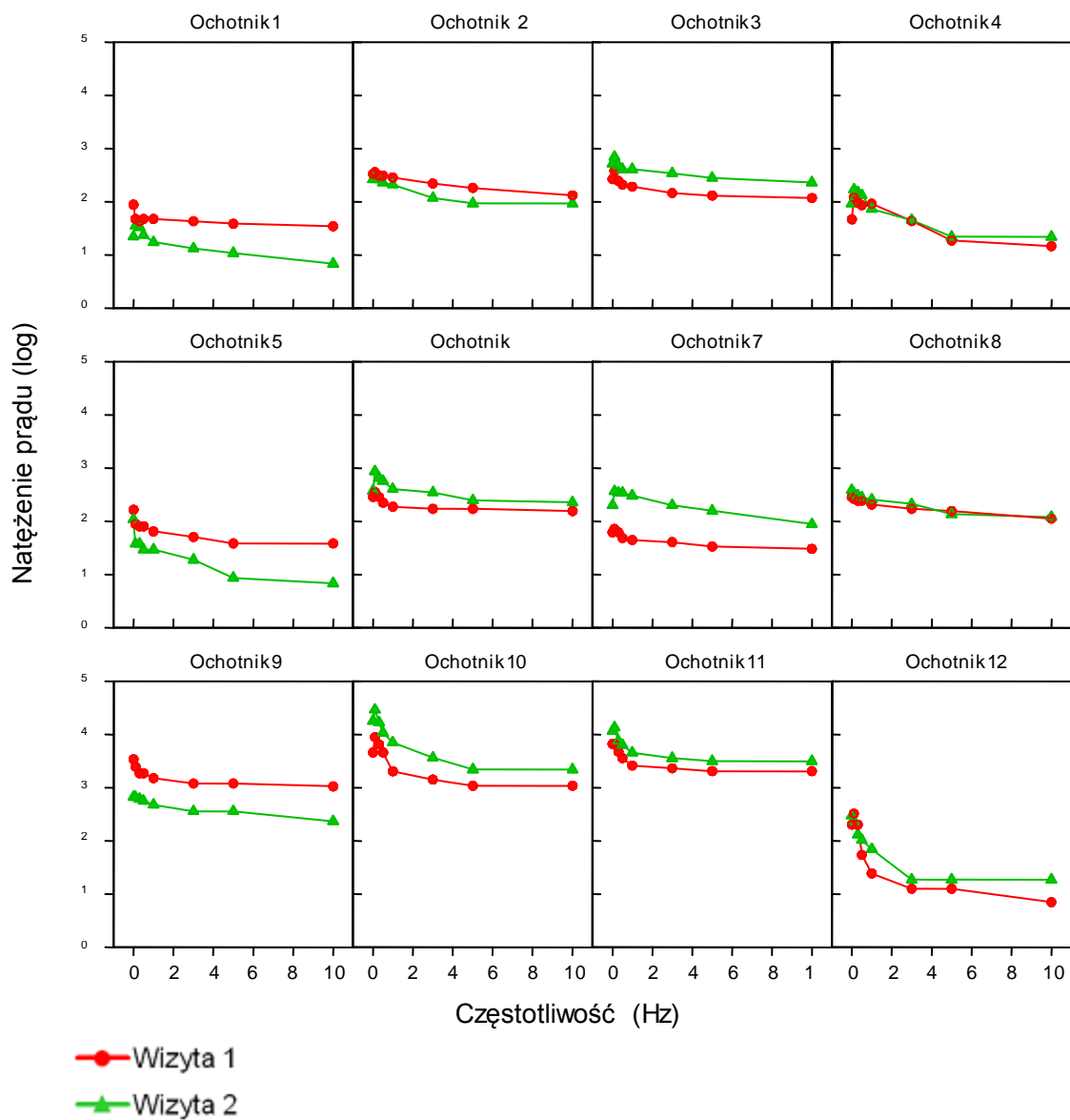
Rycina 3. Stymulatory firmy Digitimer Ltd. użyte w badaniu. (źródło: archiwum autora)



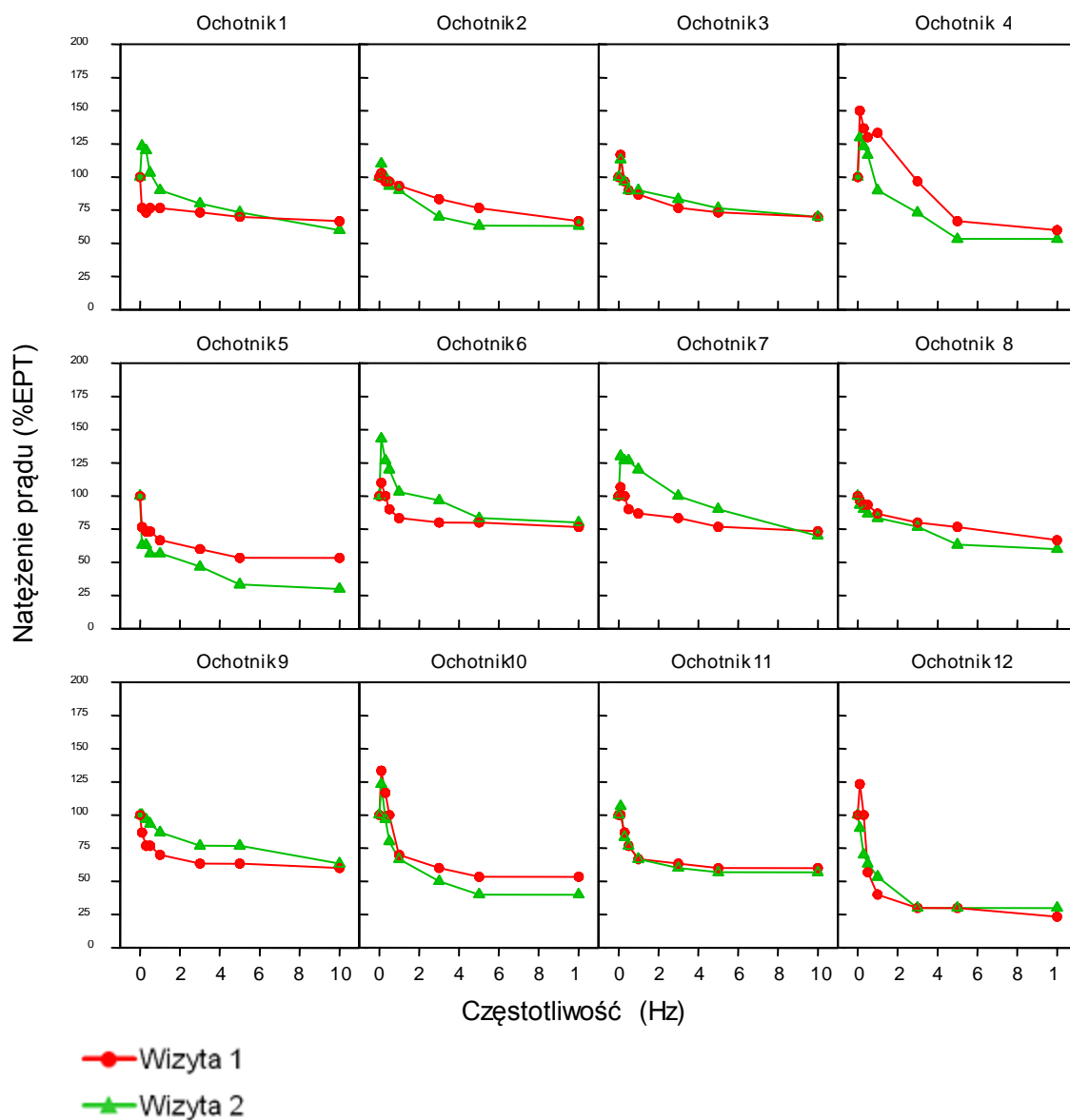
Rycina 4. Wykres zależności między częstotliwością stymulacji a natężeniem prądu wyrażonym w procencie progu bólu (%EPT).



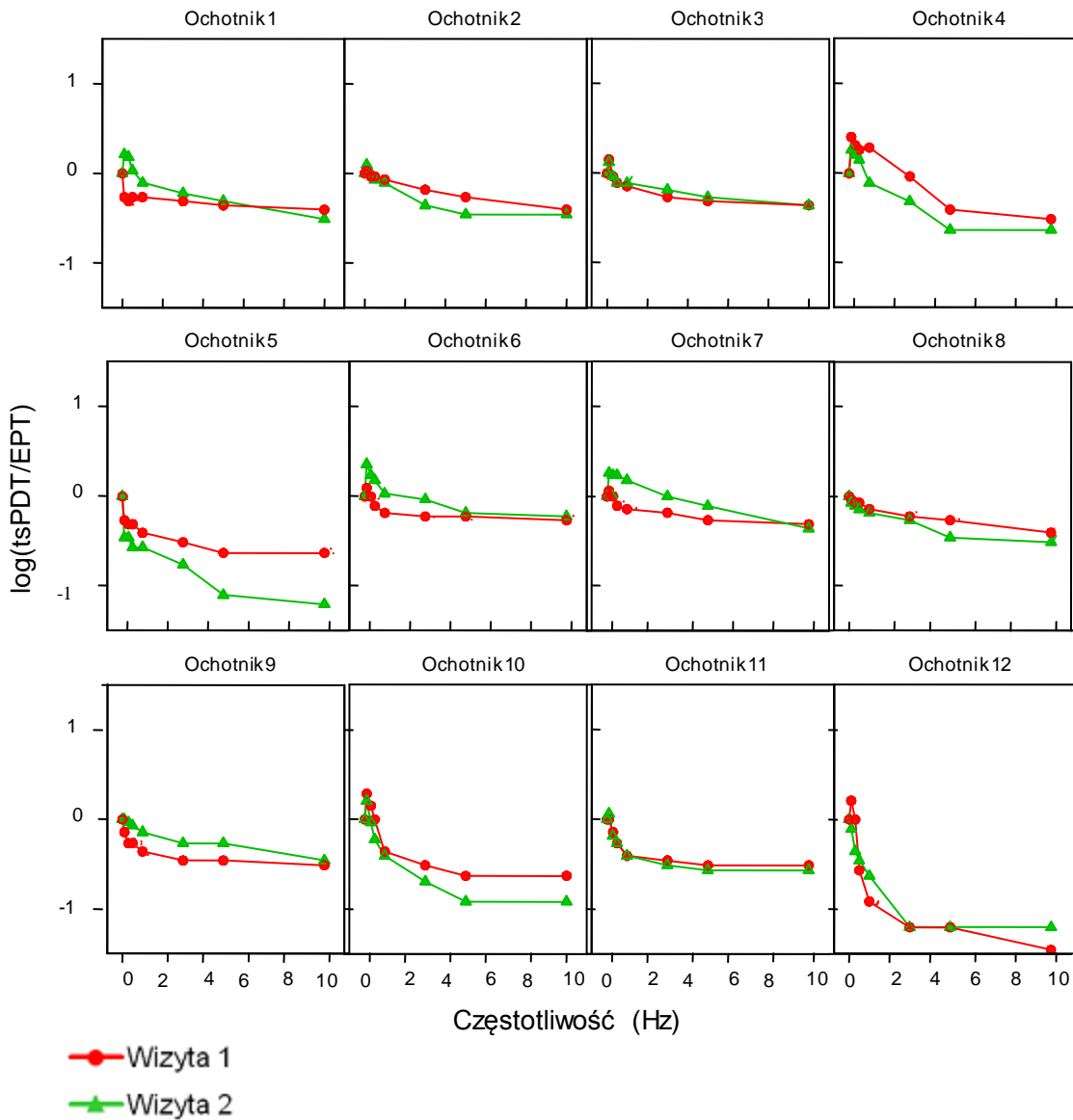
Rycina 5. Indywidualne progi sumowania czasowego wyrażone w zlogarytmowanych wartościach natężenia prądu dla każdej z zastosowanych częstotliwości stymulacji.



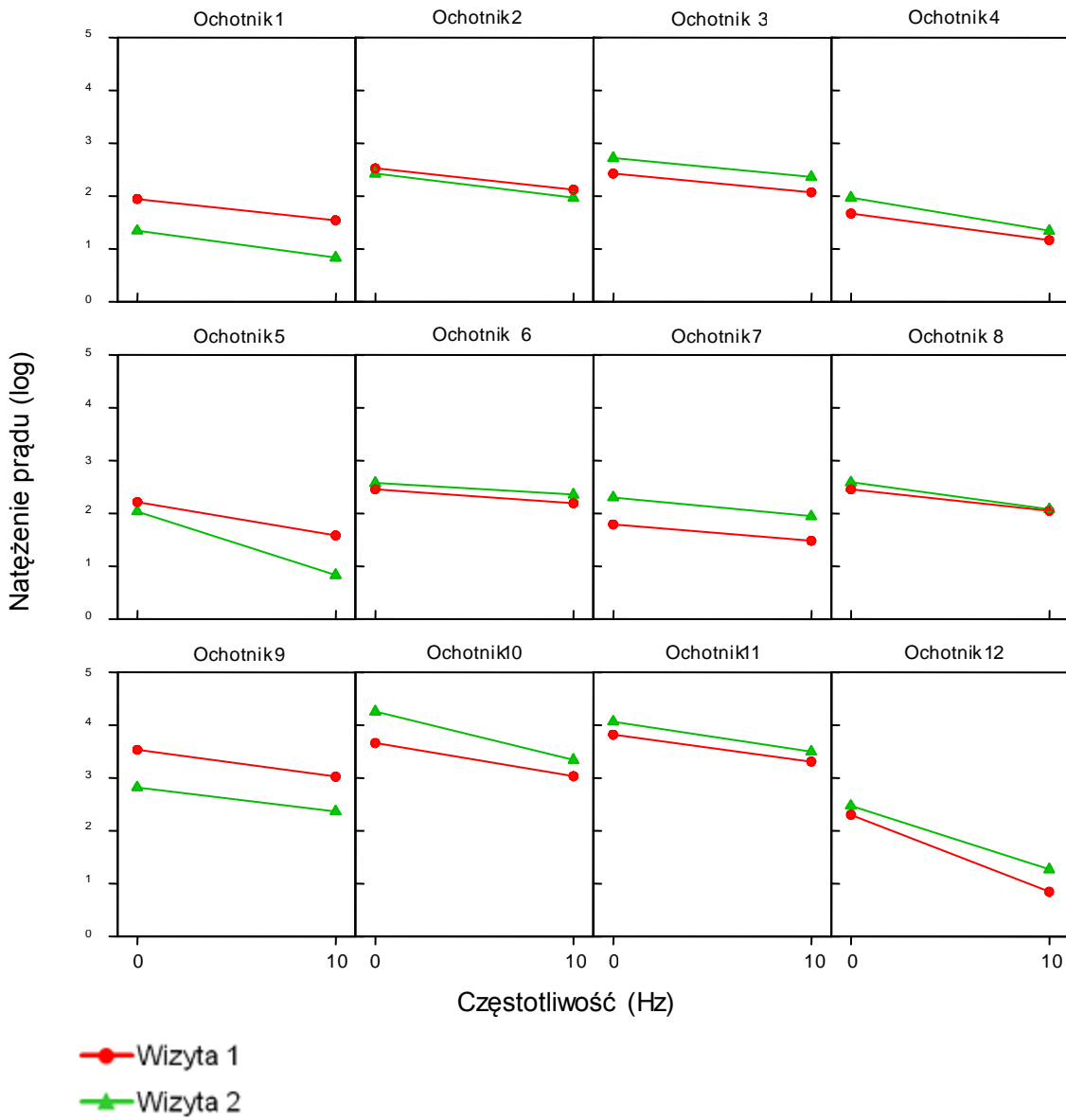
Rycina 6. Indywidualne progi sumowania czasowego wyrażone w procentach EPT dla każdej z zastosowanych częstotliwości stymulacji.



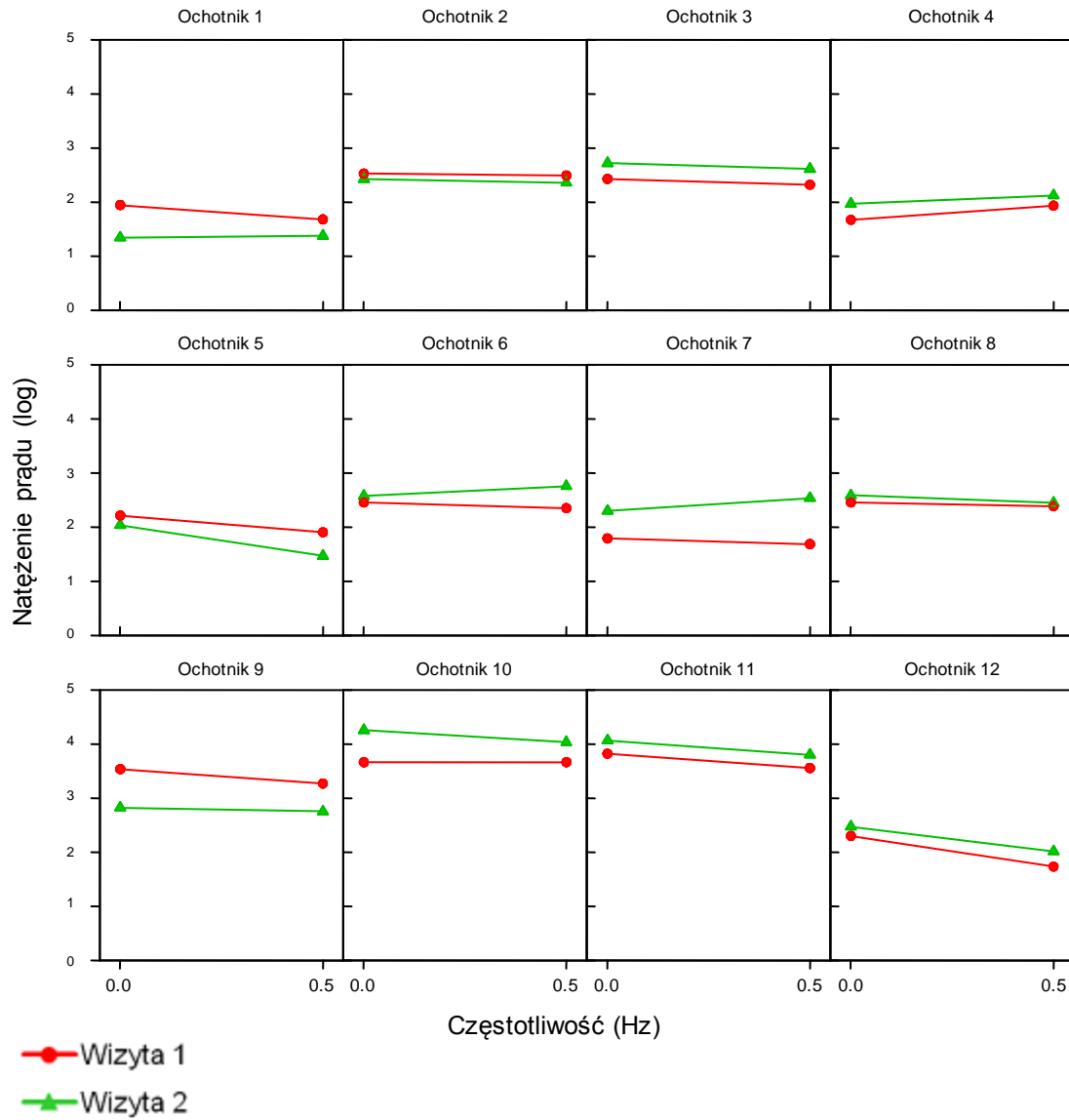
Rycina 7. Indywidualne progi sumowania czasowego wyrażone w zlogarytmowanym współczynniku natężenie prądu/próg bólu dla każdej z zastosowanych częstotliwości stymulacji



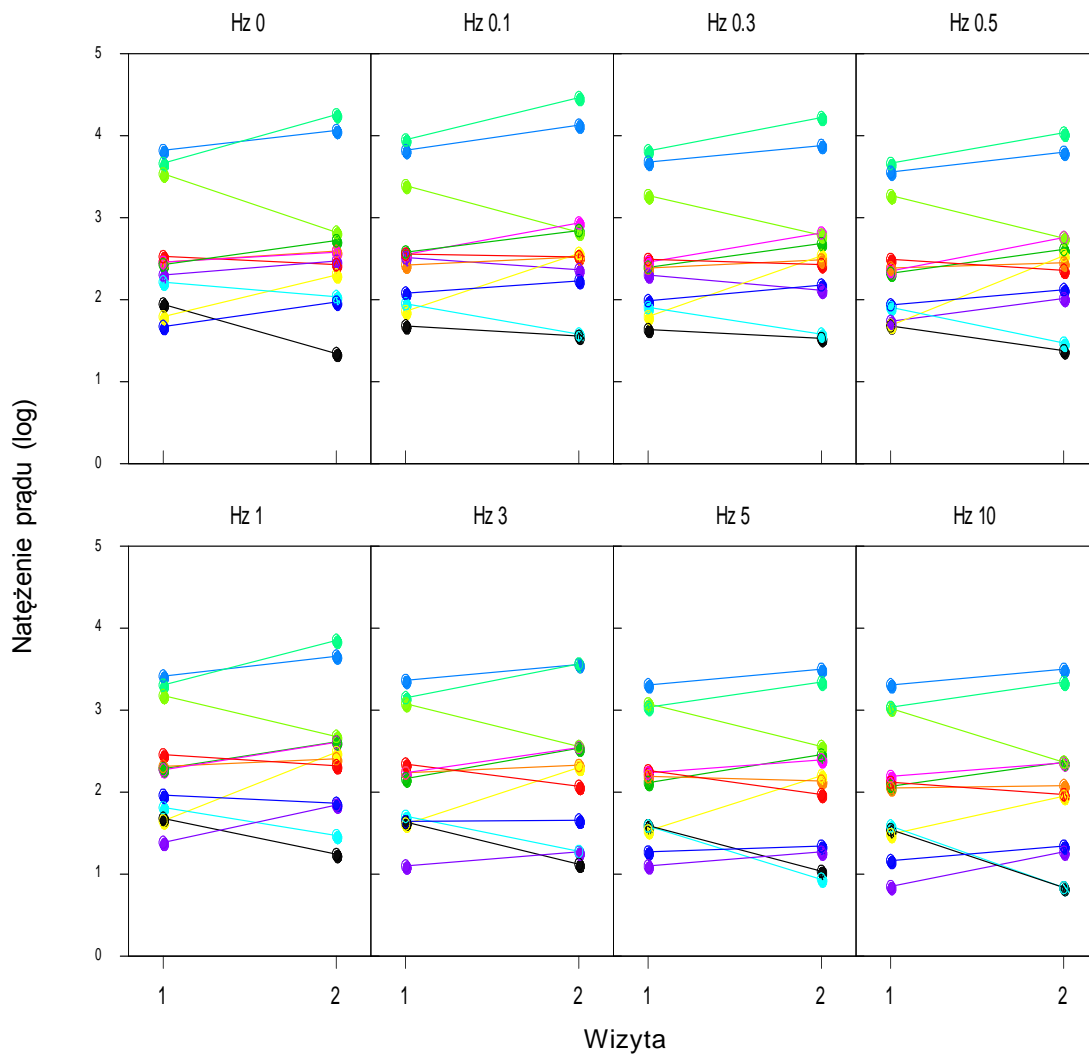
Rycina 8. Indywidualne progi sumowania czasowego dla częstotliwości 10 Hz w porównaniu do progu bólu (0 Hz).



Rycina 9. Indywidualne progi sumowania czasowego dla częstotliwości 0.5 Hz w porównaniu do progu bólu (0 Hz).



Rycina 10. Powtarzalność progu bólu (0 Hz) i progu sumowania czasowego (0.1-10Hz) pomiędzy wizytami. Do każdego z ochotników przypisany jest inny kolor.



Rycina 11. Powtarzalność progu sumowania czasowego wyrażonego w zlogarytmowanym współczynniku $tsPDT/EPT$. Do każdego z ochotników przypisany jest inny kolor.

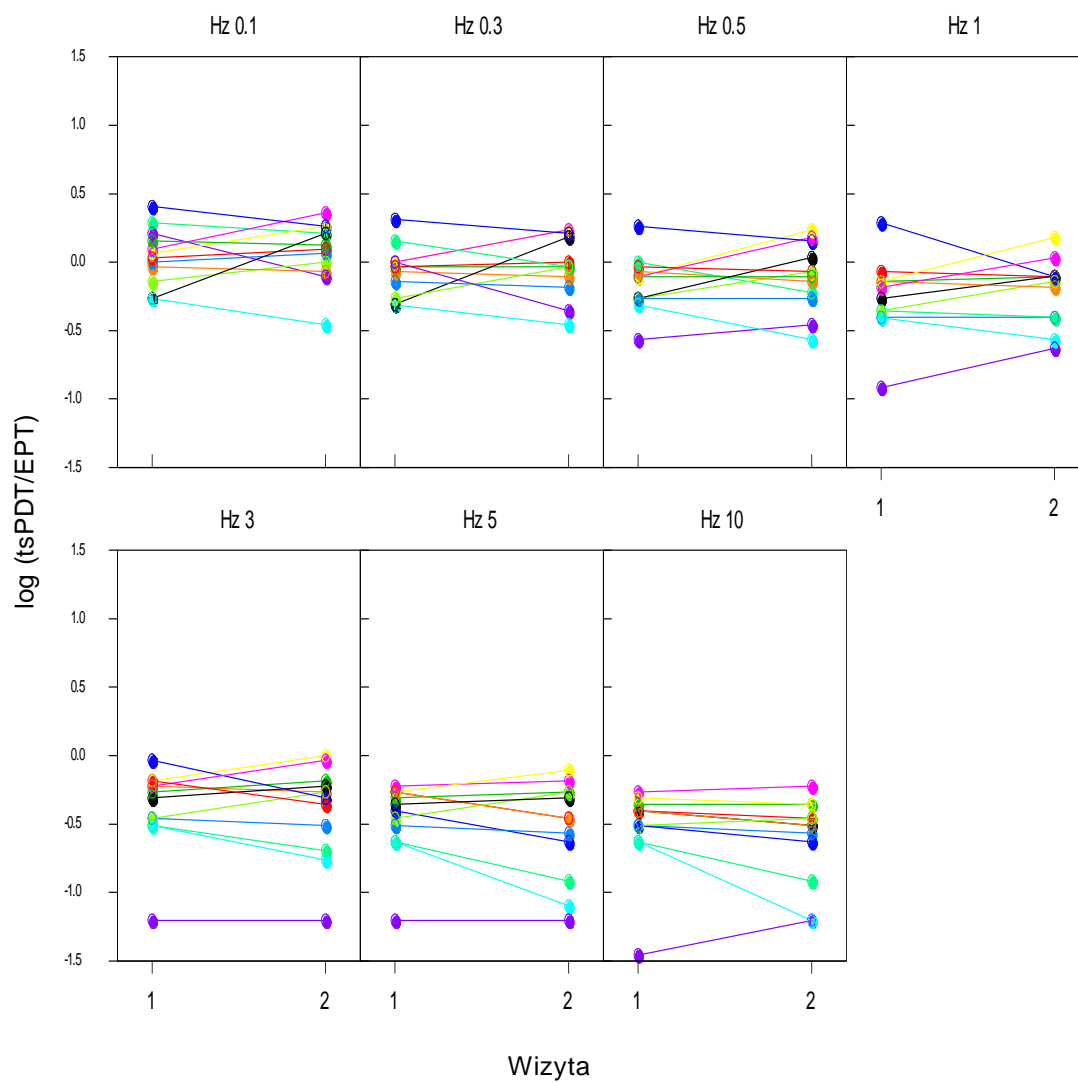


Tabela I. Czynniki wywołujące powstawanie bólu neuropatycznego.

uraz	zespół wielobjawowego bólu miejscowego, przewlekły ból pooperacyjny
zakażenie	neuropatia popółpaścowa, neuropatia wywołana HIV
niedokrwienie	ośrodkowy ból poudarowy
nowotwór	naciekanie i ucisk struktur nerwowych przez komórki rakowe
substancja chemiczna	neuropatia po leczeniu chemioterapeutykami
choroby metaboliczne	neuropatia cukrzycowa, neuropatia mocznicowa

Tabela II. Schemat sumowania czasowego.

Częstotliwość (Hz)	Liczba bodźców	Czas trwania serii (s)
10	5	0.5
5.0	5	1.0
3.0	5	1.67
1.0	5	5.0
0.5	5	10.0
0.3	5	16.67
0.1	5	50.0

Tabela III. Średnie wartości natężenia prądu (w %EPT) wywołujące ból przy stymulacji daną częstotliwością.

	Wizyta 1	Wizyta 2
Hz	%progu bólu	%progu bólu
0.1	106.7	110.5
0.3	95.8	99.5
0.5	87.5	92.2
1	80.0	83.1
3	70.8	70.3
5	65.0	61.7
10	60.8	56.4

Tabela IV. ICC uzyskane z mieszanego modelu ANOVA obliczanego na podstawie zlogarytmowanych wartości natężenia prądu.

	Zmienność międzyosobnicza(log)	Zmienność wewnątrzosobnicza(log)	ICC(log)
EPT	0.77	0.28	0.86
tsPDT (0.1Hz)	0.81	0.26	0.89
tsPDT (0.3Hz)	0.76	0.24	0.90
tsPDT (0.5Hz)	0.75	0.28	0.86
tsPDT (1.0Hz)	0.73	0.30	0.83
tsPDT (3.0Hz)	0.76	0.28	0.86
tsPDT (5.0Hz)	0.78	0.28	0.87
tsPDT (10.0Hz)	0.82	0.32	0.85

Tabela V. ICC uzyskane z modelu mieszanego ANOVA na podstawie zlogarytmowanych wartości współczynnika tsPDT/EPT.

	Zmienność międzyosobnicza(log)	Zmienność wewnątrzosobnicza(log)	ICC(log)
tsPDT-EPT (0.1Hz)	0.21	0.15	0.49
tsPDT-EPT (0.3Hz)	0.21	0.16	0.36
tsPDT-EPT (0.5Hz)	0.23	0.14	0.60
tsPDT-EPT (1.0Hz)	0.26	0.15	0.69
tsPDT-EPT (3.0Hz)	0.32	0.12	0.86
tsPDT-EPT (5.0Hz)	0.32	0.14	0.81
tsPDT-EPT (10.0Hz)	0.32	0.14	0.80

Tabela VI. Natężenia prądu dla wszystkich testowanych częstotliwości. (wartości uzyskane z ANOVA-analیزی modelu mieszanego na zlogarytmowanych wartościach natężenia)

Częstotliwość (Hz)	Średnia	Średni błąd pomiaru	95%CI dolna	95%CI górna
0	2.60	0.082	2.42	2.78
0.1	2.66	0.075	2.50	2.83
0.3	2.56	0.070	2.40	2.71
0.5	2.47	0.081	2.29	2.65
1	2.37	0.086	2.18	2.55
3	2.21	0.081	2.03	2.39
5	2.10	0.084	1.92	2.28
10	2.03	0.091	1.83	2.23

95% dolna/95% górna- dolna i górna wartość 95 % przedziału ufności (CI)

Tabela VII. Obliczenia wielkości próby koniecznej do wykrycia 25 % zmiany dla $\log(tsPDT)$ i $\log(tsPDT/EPT)$

25% zmiana						
Punkt końcowy	Log(tsPDT)			Log(tsPDT/EPT)		
Częstotliwość (Hz)	Liczebność próby	80%CI dolna	80%CI górna	Liczebność próby	80%CI dolna	80%CI górna
0.1	N/A	–	–	N/A	–	–
0.3	>7800	–	–	>3500	–	–
0.5	>1000	–	–	>200	–	–
1	>300	–	–	85	45	132
3	109	57	169	23	14	34
5	60	32	92	18	11	25
10	54	29	82	14	9	20

80%CI dolna/80%CI górna- dolna i górna wartość 80% przedziału ufności (CI)

Tabela VIII. Obliczenia wielkości próby koniecznej do wykrycia 50 % zmiany dla log (tsPDT) i log (tsPDT/EPT)

50% zmiana						
Punkt końcowy	Log(tsPDT)			Log(tsPDT/EPT)		
Częstotliwość (Hz)	Liczebność próby	80%CI dolna	80%CI górna	Liczebność próby	80%CI dolna	80%CI górna
0.1	N/A	–	–	N/A	–	–
0.3	>1900	–	–	>900	–	–
0.5	>200	–	–	75	40	116
1	95	50	147	26	16	38
3	33	19	50	9	7	12
5	20	12	29	8	6	10
10	19	11	27	7	5	9

80%CI dolna/80%CI górna- dolna i górna wartość 80% przedziału ufności (CI)

11. Piśmiennictwo

1. Merskey H., Bogduk N. *Part III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage, Classification of Chronic Pain, Second Edition, IASP Task Force on Taxonomy*, IASP Press, Seattle, 1994, 209-14
2. Dobrogowski J., Wordliczek J. *Patofizjologia Bólu. Medycyna Bólu*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2004, 17-87
3. Edward Morgan Jr. G., Mikhail M.S., Murray M.J. *Pain Management. Clinical Anesthesiology*. Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York, 2006, 359-411
4. Schmidt R, Schmelz M, Forster C, Ringkamp M, Torebjörk E, Handwerker H. *Novel classes of responsive and unresponsive C nociceptors in human skin*. J Neurosci. 1995 Jan;15(1 Pt 1):333-41
5. Farquhar-Smith W. *Anatomy, physiology and pharmacology of pain*. Anaesthesia & Intensive Care Medicine, Volume 9, Issue 1, January 2008, 3-7
6. DeLeo J.A. *Basic science of pain*. J Bone Joint Surg Am. 2006 Apr; 88 Suppl 2:58-62
7. Melzack R., Wall P.D. *Pain mechanisms: a new theory*. Science. 1965 Nov 19;150(699):971-9.
8. Baron R. *Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective*. Nat Clin Pract Neurol. 2006 Feb;2(2):95-106
9. Zimmermann M. *Pathobiology of neuropathic pain*. Eur J Pharmacol. 2001 Oct 19;429(1-3):23-37
10. Bączyk E., Łuczak J., Kotlińska-Lemieszek A. *Patomechanizm i leczenie bólu neuropatycznego* Nowa Medycyna-Ból i Opieka Paliatywna I 8/1999
11. Zimmermann M. *Functional characteristics of sensory fibres in regenerating cutaneous nerves, Clinical Neurophysiology in Peripheral Neuropathies*, Elsevier, Amsterdam 1985.
12. Leah J., Koschorke G.M., Welk E., Zimmermann M. *The expression of sensory receptors on regenerating and regenerated cutaneous C fibres*. Prog Brain Res. 1988;74:341-8
13. Rivera L., Gallar J., Pozo M.A., Belmonte C. *Responses of nerve fibres of the rat saphenous nerve neuroma to mechanical and chemical stimulation: an in vitro study*. J Physiol. 2000 Sep 1;527 Pt 2:305-13
14. Lindenlaub T., Sommer C. *Cytokines in sural nerve biopsies from inflammatory and non-inflammatory neuropathies*. Acta Neuropathol. 2003 Jun;105(6):593-602.
15. Sorkin L.S., Doom C.M. *Epineurial application of TNF elicits an acute mechanical hyperalgesia in the awake rat*. J Peripher Nerv Syst. 2000 Jun;5(2):96-100
16. de Mos M., Sturkenboom M.C., Huygen F.J. *Current understandings on complex regional pain syndrome*. Pain Pract. 2009 Mar-Apr;9(2):86-99
17. Lekan H.A., Carlton S.M., Coggeshall R.E. *Sprouting of A beta fibers into lamina II of the rat dorsal horn in peripheral neuropathy*. Neurosci Lett. 1996 Apr 26;208(3):147-50.
18. Dib-Hajj S.D., Black J.A., Waxman S.G. *Voltage-gated sodium channels: therapeutic targets for pain*. Pain Med. 2009 Oct;10(7):1260-9
19. Garry E.M., Fleetwood-Walker S.M. *A new view on how AMPA receptors and their interacting proteins mediate neuropathic pain*. Pain. 2004 Jun;109(3):210-3
20. Petrenko A.B., Yamakura T., Baba H., Shimoji K. *The role of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in pain: a review*. Anesth Analg. 2003 Oct;97(4):1108-16
21. Dogrul A., Ossipov M.H., Porreca F. *Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors*. Brain Res. 2009 Jul 14;1280:52-9

22. Vanegas H., Schaible H.G. *Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory?* Brain Res Brain Res Rev. 2004 Nov;46(3):295-309
23. Guilbaud G., Benoist J.M., Levante A., Gautron M., Willer J.C. *Primary somatosensory cortex in rats with pain-related behaviours due to a peripheral mononeuropathy after moderate ligation of one sciatic nerve: neuronal responsiveness to somatic stimulation.* Exp Brain Res 1992;92(2):227-45.
24. Vartiainen N., Kirveskari E., Kallio-Laine K., Kalso E., Forss N. *Cortical reorganization in primary somatosensory cortex in patients with unilateral chronic pain.* J Pain. 2009 Aug;10(8):854-9.
25. Maihöfner C., Handwerker H.O., Neundörfer B., Birklein F. *Patterns of cortical reorganization in complex regional pain syndrome.* Neurology. 2003 Dec 23;61(12):1707-15.
26. Maihöfner C., Handwerker H.O., Neundörfer B., Birklein F. *Cortical reorganization during recovery from complex regional pain syndrome.* Neurology. 2004 Aug 24;63(4):693-701
27. Price D.D. *Characteristics of second pain and flexion reflexes indicative of prolonged central summation.* Exp Neurol. 1972 Nov;37(2):371-87
28. Arendt-Nielsen L., Brennum J., Sindrup S., Bak P. *Electrophysiological and psychophysical quantification of temporal summation in the human nociceptive system.* Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1994;68(3):266-73.
29. Vierck C.J. Jr., Cannon R.L., Fry G., Maixner W., Whitsel B.L. *Characteristics of temporal summation of second pain sensations elicited by brief contact of glabrous skin by a preheated thermode.* J Neurophysiol. 1997 Aug;78(2):992-1002.
30. Ren K. *Wind-up and the NMDA receptor: from animal studies to humans.* Pain. 1994 Nov;59(2):157-8.
31. Mendell L.M. *Physiological properties of unmyelinated fiber projection to the spinal cord.* Exp Neurol. 1966 Nov;16(3):316-32
32. You H.J., Arendt-Nielsen L. *Unilateral subcutaneous bee venom but not formalin injection causes contralateral hypersensitized wind-up and after-discharge of the spinal withdrawal reflex in anesthetized spinal rats.* Exp Neurol. 2005 Sep;195(1):148-60.
33. Woolf C.J., Thompson S.W. *The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation; implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states.* Pain. 1991 Mar;44(3):293-9.
34. Arendt-Nielsen L., Petersen-Felix S., Fischer M., Bak P., Bjerring P., Zbinden A.M. *The effect of N-methyl-D-aspartate antagonist (ketamine) on single and repeated nociceptive stimuli: a placebo-controlled experimental human study.* Anesth Analg. 1995 Jul;81(1):63-8.
35. Price D.D., Mao J., Lu J., Caruso F.S., Frenk H., Mayer D.J. *Effects of the combined oral administration of NSAIDs and dextromethorphan on behavioral symptoms indicative of arthritic pain in rats.* Pain. 1996 Nov;68(1):119-27.
36. Li J., Simone D.A., Lars A.A. *Windup leads to characteristics of central sensitization* Pain. 1999 Jan, 79(1):75-82
37. Pedersen J.L., Andersen O.K., Arendt-Nielsen L., Kehlet H. *Hyperalgesia and temporal summation of pain after heat injury in man.* 1998 Feb;74(2-3):189-97
38. Eide P.K. *Wind-up and the NMDA receptor complex from a clinical perspective.* Eur J Pain. 2000;4(1):5-15.
39. Graven-Nielsen T., Aspegren Kendall S., Henriksson K.G., Bengtsson M., Sörensen J., Johnson A., Gerdle B., Arendt-Nielsen L. *Ketamine reduces muscle pain, temporal summation, and referred pain in fibromyalgia patients.* Pain. 2000 Apr;85(3):483-91.

40. Staud R., Vierck C.J., Cannon R.L., Mauderli A.P., Price D.D. *Abnormal sensitization and temporal summation of second pain (wind-up) in patients with fibromyalgia syndrome.* Pain. 2001 Mar;91(1-2):165-75
41. Raphael K.G. *Temporal summation of heat pain in temporomandibular disorder patients.* J Orofac Pain. 2009 Winter;23(1):54-64
42. *Pain In Europe- a report.* Cambridge, 2008
43. Bajaj P., Arendt-Nielsen L., Andersen O.K. *Facilitation and inhibition of withdrawal reflexes following repetitive stimulation: electro- and psychophysiological evidence for activation of noxious inhibitory controls in humans.* Eur J Pain. 2005 Feb;9(1):25-31.
44. Wall P.D., Devor M., Inbal R., Scadding J.W., Schonfeld D., Seltzer Z., Tomkiewicz M.M. *Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa.* Pain. 1979 Oct;7(2):103-11.
45. Chapman L.F., Dingman H.F., Ginzberg S.P. *Failure of systemic analgesic agents to alter the absolute sensory threshold for the simple detection of pain.* Brain. 1965 Dec;88(5):1011-22.
46. Rolke R., Baron R., Maier C., Tölle T.R., Treede R.D., Beyer A., Binder A., Birbaumer N., Birklein F., Bötefür I.C., Braune S., Flor H., Hüge V., Klug R., Landwehrmeyer G.B., Magerl W., Maihöfner C., Rolko C., Schaub C., Scherens A., Sprenger T., Valet M., Wasserka B. *Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values.* Pain. 2006 Aug;123(3):231-43. Epub 2006 May 11. Erratum in: Pain. 2006 Nov;125(1-2):197.
47. van der Schaar P.J., Lamers C.B., Masclee A.A. *The role of the barostat in human research and clinical practice.* Scand J Gastroenterol Suppl. 1999;230:52-63.
48. Hughes A.M., Rhodes J., Fisher G., Sellers M., Growcott J.W. *Assessment of the effect of dextromethorphan and ketamine on the acute nociceptive threshold and wind-up of the second pain response in healthy male volunteers.* Br J Clin Pharmacol. 2002 Jun;53(6):604-12.
49. Frot M., Feine J.S., Bushnell M.C. *Sex differences in pain perception and anxiety. A psychophysical study with topical capsaicin.* Pain. 2004 Apr;108(3):230-6.
50. Pöyhkä R., Vainio A. *Topically administered ketamine reduces capsaicin-evoked mechanical hyperalgesia.* Clin J Pain. 2006 Jan;22(1):32-6.
51. Angst M.S., Tingle M., Phillips N.G., Carvalho B. *Determining heat and mechanical pain threshold in inflamed skin of human subjects.* J Vis Exp. 2009 Jan 14;
52. Simpson T.L. *Nociceptive sensation and sensitivity evoked from human cornea and conjunctiva stimulated by CO₂.* Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003 Feb;44(2):529-32
53. Wasner G., Schattschneider J., Binder A., Baron R. *Topical menthol--a human model for cold pain by activation and sensitization of C nociceptors.* Brain. 2004 May;127(Pt 5):1159-71.
54. Forster C., Magerl W., Beck A., Geisslinger G., Gall T., Brune K., Handwerker H.O. *Differential effects of dipyrone, ibuprofen, and paracetamol on experimentally induced pain in man.* Agents Actions. 1992 Jan;35(1-2):112-21.
55. Christidis N., Ioannidou K., Milosevic M., Segerdahl M., Ernberg M. *Changes of hypertonic saline-induced masseter muscle pain characteristics, by an infusion of the serotonin receptor type 3 antagonist granisetron.* J Pain. 2008 Oct;9(10):892-901.
56. Witting N., Svensson P., Gottrup H., Arendt-Nielsen L., Jensen T.S. *Intramuscular and intradermal injection of capsaicin: a comparison of local and referred pain.* Pain. 2000 Feb;84(2-3):407-12.

57. Chen A.C., Niddam D.M., Arendt-Nielsen L. *Contact heat evoked potentials as a valid means to study nociceptive pathways in human subjects.* Neurosci Lett. 2001 Dec;316(2):79-82.
58. Rowbotham M.C. *A new human experimental pain model: the heat/capsaicin sensitization model.* Petersen Neuroreport. 1999 May 14;10(7):1511-6.
59. Chassaing C., Schmidt J., Eschalièr A., Cardot J.M, Dubray C. *Hyperalgesia induced by cutaneous freeze injury for testing analgesics in healthy volunteers* Br J Clin Pharmacol. 2006 Apr;61(4):389-97.
60. Lecybyl R., Acosta J., Ghoshdastidar J., Stringfellow K., Hanna M. *Validation, reproducibility and safety of trans dermal electrical stimulation in chronic pain patients and healthy volunteers.* BMC Neurol. 2010 Jan 13;10:5.
61. Klein T., Magerl W., Hopf H.C., Sandkühler J., Treede R.D. *Perceptual correlates of nociceptive long-term potentiation and long-term depression in humans.* J Neurosci. 2004 Jan 28;24(4):964-71.
62. Gracely R. *Pain Measurement.* Acta Anaesth. Scand. 1999,43, 897-908
63. Bromm B., Treede R.D. *Laser-evoked cerebral potentials in the assessment of cutaneous pain sensitivity in normal subjects and patients.* Rev Neurol (Paris). 1991;147(10):625-43.
64. Summers P.E., Ferraro D., Duzzi D., Lui F., Iannetti G.D., Porro C.A. *A quantitative comparison of BOLD fMRI responses to noxious and innocuous stimuli in the human spinal cord.* Neuroimage. 2010 May 1;50(4):1408-15.
65. Mueller C., Klega A., Buchholz H.G., Rolke R., Magerl W., Schirrmacher R., Schirrmacher E., Birklein F., Treede R.D., Schreckenberger M. *Basal opioid receptor binding is associated with differences in sensory perception in healthy human subjects: a [18F]diprenorphine PET study.* Neuroimage. 2010 Jan 1;49(1):731-7.
66. Fleiss J.L. *The design and analysis of clinical experiments.* New York: John Wiley & Sons; 1986.
67. Sandkühler J. *Proceedings of the Ninth World Congress on Pain. Long-lasting analgesia following TENS and acupuncture: spinal mechanisms beyond gate control.* Progress in Pain Research and Management, Vol 16 (Devor M, Rowbotham M, Wiesenfeld-Hallin Z), pp 359–369. Seattle: International Association for the Study of Pain, 2000
68. Arendt-Nielsen L., Frøkjær J.B., Staahl C., Graven-Nielsen T., Huggins J.P., Smart T.S., Drewes A.M. *Effects of gabapentin on experimental somatic pain and temporal summation.* Reg Anesth Pain Med. 2007 Sep-Oct;32(5):382-8.
69. Arendt-Nielsen L., Frøkjær J.B., Staahl C., Graven-Nielsen T., Huggins J.P., Smart T.S., Drewes A.M. *Effects of gabapentin on experimental somatic pain and temporal summation.* Reg Anesth Pain Med. 2007 Sep-Oct;32(5):382-8.
70. You H.J., Lei J., Arendt-Nielsen L. *Selective inhibitory effects of pregabalin on peripheral C but not A-delta fibers mediated nociception in intact and spinalized rats.* Neuroscience. 2009 Dec 29;164(4):1845-53.
71. Staahl C., Reddy H., Andersen S.D., Arendt-Nielsen L., Drewes A.M. *Multi-modal and tissue-differentiated experimental pain assessment: reproducibility of a new concept for assessment of analgesics.* Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006 Feb;98(2):201-11.
72. Cathcart S., Winefield A.H., Rolan P., Lushington K. *Reliability of temporal summation and diffuse noxious inhibitory control.* Pain Res Manag. 2009 Nov-Dec;14(6):433-8.

73. Hughes A., Macleod A., Growcott J., Thomas I. *Assessment of the reproducibility of intradermal administration of capsaicin as a model for inducing human pain.* Pain. 2002 Sep;99(1-2):323-31.
74. Nielsen C.S., Staud R., Price D.D. *Individual differences in pain sensitivity: measurement, causation, and consequences.* J Pain. 2009 Mar;10(3):231-7
75. Skarke C., Darimont J., Schmidt H., Geisslinger G. *Analgesic effects of morphine and morphine-6-glucuronide in a transcutaneous electrical pain model in healthy volunteers.* J.Clin Pharmacol Ther. 2003 Jan;73(1):107-21.
76. Enggaard T.P., Klitgaard N.A., Sindrup S.H. *Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models.* Eur J Pain. 2006 Apr;10(3):193-8
77. Enggaard T.P., Mikkelsen S.S., Zwisler S.T., Klitgaard N.A., Sindrup S.H. *The effects of gabapentin in human experimental pain models* Scand J Pain. 2010 Jul; 1(3) 143-8