

STRESZCZENIE

Przez wiele lat uważano, że receptory sprzężone z białkami G (GPCRs), stanowiące najliczniejszą i najbardziej zróżnicowaną grupę białek receptorowych, funkcjonują jako monomery. Koncepcja oligomeryzacji GPCRs nie tylko spowodowała inne podejście do zrozumienia mechanizmów przekazywania sygnału, ale również rzuciła nowe światło na działanie leków. Oligomery wykazują bowiem unikalne właściwości farmakologiczne i funkcjonalne, odmienne od pojedynczych receptorów i mogą stanowić nową strategię w leczeniu chorób. Zjawisko oligomeryzacji może mieć szczególne znaczenie w leczeniu depresji, która pomimo kilkudziesięciu lat intensywnych badań, jest stale narastającym problemem klinicznym i społecznym. Leki przeciwdepresyjne stosowane obecnie w klinice mają ograniczoną skuteczność u około 30% pacjentów, a także często powodują niepożądane skutki uboczne. Istnieje zatem konieczność poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych. Znalezienie ścieżek zaangażowanych w patofizjologię choroby, w których pośredniczą właśnie interakcje pomiędzy receptorami, może umożliwić opracowanie nowej strategii leczenia. Ze względu na powszechnie przyjętą monoaminergiczną teorię depresji, poznane dotąd mechanizmy działania leków przeciwdepresyjnych koncentrują się głównie na dwóch układach neuroprzekaźnikowych: układzie serotonergicznym i noradrenergicznym, ale ostatnio coraz częściej sugeruje się rolę innych neurotransmiterów, które pozostawały dotąd poza zainteresowaniem badaczy.

Wyniki licznych badań behawioralnych i biochemicznych sugerują wzajemne oddziaływanie układu dopaminergicznego i somatostatynergicznego wynikające ze współwystępowania receptorów dopaminowych i somatostatynowych na neuronach w określonych regionach mózgu, m.in. prążkowiu. Molekularnym podłożem interakcji tych dwóch systemów wydaje się być interakcja na poziomie receptorowym, szczególnie iż receptory dopaminowe oraz somatostatynowe, podobnie jak inne GPCRs, występują w błonie komórkowej w formie homo- bądź heterooligomerów. W ostatnich latach wykazano, iż pod wpływem działania specyficznych ligandów receptory somatostatynowe ss_{5} i receptory dopaminowe D_2 są zdolne do tworzenia heterodimerów o zmienionych właściwościach farmakologicznych i funkcjonalnych.

Ponieważ istnieją badania dowodzące istotnej roli wzajemnej regulacji systemu dopaminergicznego i somatostatynergicznego w patomechanizmie depresji oraz mechanizmie

działania leków przeciwdepresyjnych, w ramach niniejszej pracy postanowiono zbadać wpływ wybranych leków przeciwdepresyjnych na zjawisko heterodimeryzacji receptorów dopaminowych D₂ i somatostatynowych sst₅. Badania wykonano wykorzystując modele *in vitro* oraz *ex vivo*. W pierwszym kroku zastosowano zaawansowane techniki biofizyczne, oparte na pomiarze zjawiska FRET, do badania heterodimeryzacji receptorów dopaminowych D₂ i somatostatynowych sst₅ w modelowych komórkach eukariotycznych. Komórki linii HEK 293 transfekowano przejściowo stworzonymi konstruktami białek fuzyjnych, zawierającymi cDNA receptorów - somatostatynowego sst₅ oraz dopaminowego D₂, połączonych z białkami fluorescencyjnymi. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły doniesienia literaturowe świadczące o heterodimeryzacji tych receptorów oraz o pozytywnym wpływie naturalnych agonistów na to zjawisko. W następnym kroku zbadano wpływ wybranych leków przeciwdepresyjnych: imipraminy, dezipraminy i escitalopramu na formowanie heterokompleksów D₂-sst₅.

W celu weryfikacji wyników otrzymanych w heterologicznym układzie doświadczalnym kolejne eksperymenty wykonano w układach wykazujących endogenną ekspresję badanych receptorów. Badania wpływu wybranych leków przeciwdepresyjnych na formowanie heterokompleksów D₂-sst₅ przeprowadzono z wykorzystaniem mysiej pierwotnej hodowli komórek nerwowych prądkowia; myszy, którym podano wybrane leki jednorazowo oraz wielokrotnie (przez 21 dni) oraz szczurów poddanych procedurze chronicznego łagodnego stresu (CMS) – zwierzęcego modelu depresji. Badania wykonano z użyciem stosunkowo nowej techniki biochemicznej – *in situ* PLA.

Przeprowadzone eksperymenty wykazały, iż różne leki przeciwdepresyjne wpływają na heterodimeryzację receptorów dopaminowych D₂ i somatostatynowych sst₅ w odmienny sposób. Dezipramina i escitalopram promują formowanie heterokompleksów D₂-sst₅, z kolei działanie imipraminy wiąże się z rozprzeganiem istniejących w błonie komórkowej heterodimerów. Dodatkowo, wykorzystanie zwierząt poddanych procedurze CMS pozwoliło wykazać, że również stres prowadzi do formowania heterodimerów D₂-sst₅.

Zastosowanie biofizycznych i biochemicznych metod badawczych w układach *in vitro* oraz *ex vivo* pozwoliło potwierdzić obserwowane zmiany w badanym zjawisku oligomeryzacji i wykazać, że heterokompleksy D₂-sst₅ mogą mieć znaczenie w mechanizmie działania leków antydepresyjnych.