Streszczenie

Jądra przykomorowe podwzgórza (PVN) stanowią najwyższe piętro osi podwzgórze–przysadka mózgowa–nadnercza (PPN), której aktywacja stanowi podstawowy element reakcji stresowej. W obrębie PVN zasadniczą rolę w aktywacji osi PPN pełni populacja neuronów drobnokomórkowych syntetyzujących kortykoliberynę (CRH), która uwalniana jest z zakończeń neurosekrecyjnych w przednim płacie przysadki mózgowej, stymulując produkcję kortykotropiny (ACTH), pobudzającej korę nadnerczy do produkcji hormonów glukokortykoidowych. Istniejące dane literaturowe sugerują, że jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za dysfunkcje osi PPN pod wpływem stresu mogą być zmiany w unerwieniu drobnokomórkowych neurosekrecyjnych neuronów PVN (Bartanusz i wsp., 1995; Herman i Cullinan, 1997; Flak i wsp., 2009; Kuzmiski i wsp., 2011; Kusek i wsp., 2012). Aktywność neuronów PVN pozostaje pod wpływem przede wszystkim unerwienia glutaminianergicznego oraz GABAergicznego (Boudaba i wsp., 1997; Daftary i wsp., 2000; Levy i Tasker, 2012). W związku z tym, głównym celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu stresu unieruchomienia o zróżnicowanej liczbie powtórzeń na przekaźnictwo glutaminianergiczne oraz przekaźnictwo GABAergiczne w PVN szczura na poziomie pojedynczych połączeń synaptycznych.

Dostępne dane literaturowe sugerują, że antagoniści receptorów 5–HT_7 wykazują działanie „przeciwdepresyjne" (Tokarski i wsp., 2012; Monti i wsp., 2012; Nikiforuk, 2012; Mnie–Filali i wsp., 2011). Jako że dysfunkcja osi PPN może być jedną z przyczyn rozwoju zależnych od stresu zaburzeń psychicznych (Pariante i Lightman, 2008), można założyć, że zaburzenie prawidłowego funkcjonowania receptorów 5–HT_7 w obszarze osi PPN może być jedną z przyczyn patofizjologii osi PPN w warunkach wielokrotnego stresu (Pariante i Lightman, 2008). Badania naszego zespołu wykazały, że blokada receptora 5–HT_7 zapobiega efektom wywieranym przez powtarzany przez 3 dni stres unieruchomienia na przekaźnictwo pobudzające i plastyczność synaptyczną w korze czołowej, jednak mechanizm tego zjawiska nie jest znany (Tokarski i wsp., 2011). Dlatego kolejnym celem pracy doktorskiej było zweryfikowanie hipotezy, według której blokada receptora 5–HT_7, przez podanie selektywnego antagonisty, związku SB 269970, zapobiega niekorzystnym efektom stresu poprzez blokowanie wywołanych stresem zmian w przekaźnictwie pobudzającym w PVN.

Ponieważ istniejące dane literaturowe sugerują, że inhibitory neuronalnej syntazy tlenku azotu (nNOS) zapobiegają szkodliwym efektom stresu (Harkin i wsp., 1999; Kim i Rivier, 2000; Masood i wsp., 2003), kolejnym zadaniem badawczym było sprawdzenie, czy podanie nieselektywnego inhibitora syntazy tlenku azotu, związku L–NNA, zablokuje wywołane stresem zmiany w przekaźnictwie w PVN.

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, że jednorazowe unieruchomienie wywołuje spadek przekaźnictwa GABAergicznego i wzrost przekaźnictwa glutaminianergiczego. Mechanizm zaobserwowanych zmian jest prawdopodobnie powiązany z modyfikacjami w uwalnianiu przekaźnika z pęcherzyków presynaptycznych. Ponieważ zmiany te ustępują w ciągu 24 godzin, możemy założyć, że są odpowiedzią organizmu na pojedynczy indukowany stresem wyrzut kortykosteronu i nie maja charakteru adaptacyjnego. Wykazano również, że powtarzany 6-krotnie w ciągu 3 dni stres unieruchomienia wywołuje zmiany adaptacyjne w obrębie układu glutaminianergicznego w postaci nasilonej transmisji synaptycznej i zmiany w kinetyce prądów pobudzających. Czas obserwacji zmian- 24 godziny od ostatniej sesji stresowej- sugeruje, że są one formą plastyczności synaptycznej odpowiedzialnej za utrzymanie homeostazy organizmu. Prawdopodobny mechanizm leżący u podłoża tych zmian to zwiększenie ilości neuroprzekaźnika uwalnianego z zakończeń aksonów presynaptycznych oraz postsynaptyczne zmiany w podjednostkach receptorów AMPA i/lub NMDA.

Zmiany w obrębie układu glutaminianergicznego obserwowane po powtarzanym 6-krotnie w ciągu 3 dni stresie unieruchomienia są odwracane przy udziale nieselektywnego inhibitora syntazy tlenku azotu– L–NNA. Uzyskane wyniki sugerują, że podania L–NNA wpływają selektywnie na presynaptyczne efekty stresu, natomiast efekty postsynaptyczne wywołane stresem pozostają bez zmian.

Zmiany w obrębie układu glutaminianergicznego obserwowane po powtarzanym 6-krotnie w ciągu 3 dni stresie unieruchomienia nie są odwracane przez selektywnego antagonistę receptorów $5–HT_7$. Wydaje się prawdopodobne, że brak efektu blokady receptora $5–HT_7$ na zmiany wywoływane stresem w przekaźnictwie synaptycznym i pobudliwości drobnokomórkowych neuronów PVN jest związany z niską gęstości tego receptora w tym obszarze podwzgórza.

Stwierdzono brak efektu powtarzanego 14-krotnie w ciągu 7 dni stresu unieruchomienia na przekaźnictwo glutaminianergiczne i GABAergiczne, kinetykę prądów postsynaptycznych oraz pobudliwość neurosekrecyjnych neuronów drobnokomórkowych w PVN. Wskazuje to, że wielokrotnie powtarzany stres homotypowy, taki jak zastosowany stres unieruchomienia, prowadzi do systemowej adaptacji do czynnika stresowego, powodując tym samym osłabienie nasilonej początkowo odpowiedzi neuronalnej w strukturach zaangażowanych z przetwarzaniem informacji sensorycznej.