



**Instytut Farmakologii
im. Jerzego Maja
Polskiej Akademii Nauk**

mgr Adam Bielawski

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Badanie ekspresji białek związanych ze szlakiem przekąźnictwa mózgowych receptorów α_1 adrenergicznych w zwierzęcych modelach depresji”

Praca doktorska wykonana w Zakładzie Biochemii Mózgu Instytutu farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii nauk w Krakowie

Promotor: prof. dr hab. Irena Nalepa

Recenzenci: prof. dr hab. Elżbieta Pyza, prof. dr hab. Elżbieta Salińska

Streszczenie

Wyjaśnienie patomechanizmów zaburzeń depresyjnych w dalszym ciągu jest dużym wyzwaniem dla neurobiologii, ponieważ patofizjologiczne zmiany obejmują wiele powiązanych i współdziałających ze sobą układów w mózgu. Jednym z nich jest układ noradrenergiczny, którego częścią jest szlak przekazywania sygnału od receptorów α_1 -adrenergicznych do różnych białek efektorowych wewnątrz komórki, w tym także białek uczestniczących w procesach pro-życiowych. Za aktywność neuronów układu noradrenergicznego odpowiadają głównie receptory adrenergiczne (AR), których podrodziną są receptory α_1 -AR. W tej podrodzinie wyszczególniamy podtypy α_{1A} , α_{1B} i α_{1D} , wszystkie związane ze szlakiem przekąźnictwa sygnału zależnego od białek $G_{q/11}$, które poprzez akumulację wtórnych przekąźników zwiększają aktywność kinazy białkowej C. W badaniu mechanizmów depresji oraz jej leczenia używamy zwierzęcych modeli depresji. Szczególną rolę pełnią modele oparte na stresie, które przynajmniej częściowo odwzorowują zmiany widoczne u pacjentów, w tym osiowy objaw depresji, jakim jest stan anhedonii czyli unikanie przeżywania przyjemności.

Celem tej pracy było przebadanie w dwóch zwierzęcych modelach depresji czy zaburzenia depresyjne prowadzą do zmian adaptacyjnych w obrębie systemu receptorów α_1 -AR w mózgu na 3. poziomach: (1) ekspresji podtypów receptorów α_1 -AR; (2) ekspresji białek G związanych



bezpośrednio do tego receptora; (3) białek efektorowych związanych tylko pośrednio z systemem receptorów α_1 -AR oraz uczestniczących w procesach przeciwdziałania skutkom stresu komórkowego - aktywności kinaz ERK1 / 2 oraz ekspresji białek szoku cieplnego z rodzin Hsp70 i Hsp90 i białek z rodziny Bcl-2 regulujących proces apoptozy. Pierwszym modelem był mysi model stresu krótkotrwałej manipulacji postnatalnej (PSM), w którym noworodki mysie po urodzeniu były poddawane codziennej, krótkotrwałej izolacji od matki, a objawy anhedonii badano u myszy dorosłych. Drugim modelem był szczurzy model chronicznego łagodnego stresu (CMS), w którym dorosłe szczury poddawano łagodnym bodźcom stresowym w sposób ciągły, a objawy anhedonii badano równolegle. W modelu CMS zbadano także wpływ leczenia lekiem przeciwdepresyjnym, imipraminą (IMI), na zmiany adaptacyjne wywołane CMS. W obu modelach zastosowany stres indukował stan anhedonii u badanych zwierząt. Dodatkowo, w modelu CMS zidentyfikowano szczury, które nie reagowały behawioralnie anhedonią na podawany stres, a wśród tych reagujących na stres takie, które nie odpowiadały na leczenie IMI.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zarówno stres PSM jak i CMS indukował zmiany w ilości mózgowych receptorów α_1 -AR, a także zmiany ekspresji białek związanych z regulacją procesów neuroprotekcyjnych.

Stres PSM powodował u dorosłych myszy obniżenie gęstości całej puli α_1 -AR oraz podtypu α_{1B} -AR w niektórych j. wzgórza oraz hipokampie. 3. tyg. stres CMS powodował spadek gęstości podtypu α_{1B} -AR w j. wzgórza szczurów, która po 8. tyg. CMS ulegała normalizacji. „Leczenie” IMI obniżało gęstość podtypu α_{1B} -AR w j. wzgórza, która u „niewyleczonych” pozostawała na poziomie szczurów „chorych”. W hipokampie natomiast 3. tyg. CMS powodował wzrost gęstości podtypu α_{1B} -AR, która po 8. tyg. CMS ulegała z kolei obniżeniu. „Leczenie” IMI przywracało gęstość podtypu α_{1B} -AR do wartości grupy kontrolnej.

Stres PSM obniżał w korze przedczołowej i podwyższał we wzgórzu dorosłych myszy ekspresję Hsp72 mRNA zmieniając ich działanie ochronne. Natomiast zmniejszenie ekspresji Hsp90 α mRNA w korze przedczołowej i wzgórzu pod wpływem PSM może skutkować osłabieniem sygnalizacji zależnej od receptora dla glikokortykoidów. Zaobserwowany po PSM wzrost indeksów anty-apoptotycznych Bcl-2/Bax i Bcl-xl/Bax mRNA w hipokampie może odzwierciedlać wzmocnienie mechanizmów neuroprotekcyjnych u dorosłych myszy. Z kolei 3. tyg. CMS zmniejszał



ekspresję Hsp90 α mRNA w HIP szczurów reagujących na stres, co może powodować osłabienie sygnalizacji od receptora dla glikokortykoidów. Natomiast po 8. tyg. CMS dochodziło do wzrostu ilości białka Hsp72 zarówno w hipokampie jak i korze przedczołowej świadczącego o istnieniu reakcji stresowej na poziomie komórkowym. „Leczenie” IMI wygaszało tę reakcję, jednak u zwierząt „niewyleczonych” dochodziło do indukcji ekspresji Hsp72 mRNA, co sugeruje istnienie niewygaszonej komórkowej reakcji stresowej. Stwierdzono również, że 3 tyg. CMS powodował w hipokampie wzrost indeksów anty-apoptotycznych Bcl-2 / Bax i Bcl-xl / Bax mRNA, co może być kompensacyjnym wzmocnieniem procesów neuroprotekcyjnych. Natomiast u szczurów „niewyleczonych” indeksy te były podwyższone, co również świadczy o indukcji neuroprotekcyjnych mechanizmów kompensacyjnych. Dodatkowo, w modelu 8. tyg. CMS zaobserwowano spadek poziomu białka fosforylacji pERK1/2 w hipokampie szczurów „niewyleczonych”, który może świadczyć o osłabieniu mechanizmów uczenia się, pamięci i plastyczności u tych szczurów.

Podsumowując, przeprowadzone prace ujawniły szczególną rolę podtypów α_1 -AR, w tym α_{1B} , w mechanizmach działania obu rodzajów stresu, a także w procesie odpowiedzi na „leczenie” IMI. Wykazano również indukcję neuroprotekcyjnych mechanizmów kompensacyjnych przez PSM i CMS, a także komórkowej reakcji stresowej przez CMS, która była wygaszana „leczeniem” IMI. Wzbogaca to naszą wiedzę o patomechanizmach depresji pomocną w opracowywaniu skuteczniejszych terapii przeciwdepresyjnych.

