

Wpływ stresu na modulację aktywności neuronów i przekaźnictwa synaptycznego  
przez receptor 5-HT<sub>7</sub> w grzbietowym jądrze szwu szczura

## Streszczenie

Grzbietowe jądro szwu (DRN) stanowi główne źródło projekcji serotonergicznycch w obrębie przodomózgowia. Jądro to zaangażowane jest w regulację wielu procesów fizjologicznych, takich jak sen, rytmika okołodobowa, pobieranie pokarmu czy termoregulacja (Celada i in., 2013). DRN odgrywa także istotną rolę w regulacji odpowiedzi stresowej organizmu oraz stanów emocjonalnych. Zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu neuronów serotonergicznycch DRN obserwuje się w chorobach afektywnych, takich jak depresja czy schizofrenia (Hale i in., 2012). Organizacja sieci neuronalnej w obrębie grzbietowego jądra szwu jest bardzo złożona. Obok neuronów serotonergicznycch można wyróżnić także komórki uwalniające kwas glutaminowy, kwas  $\gamma$ -aminomasłowy (GABA) i inne neuroprzekaźniki, jak dopaminę, tlenek azotu, czy przekaźniki peptydowe (Vasudeva i in., 2011; Commons, 2009; Calizo i in., 2011). Aktywność neuronów DRN regulowana jest zarówno przez pobudzające połączenia glutaminianergiczne i hamujące połączenia GABA-ergiczne docierające do DRN z innych obszarów mózgu, jak i przez lokalne interneurony (Calizo i in., 2011; Commons, 2009; Soiza-Reilly i Commons 2011a).

Jednym z typów receptorów serotoninowych, występujących w grzbietowym jądrze szwu w dużych ilościach, jest receptor 5-HT<sub>7</sub> (Bonaventure i in., 2004). Należy on do rodziny receptorów metabotropowych związanych z białkiem G $\alpha$ s, ale jego działanie może być związane także z aktywacją innych szlaków sygnałowych (Guseva i in., 2014). Jego lokalizacja neuronalna w obrębie DRN nie została jak dotąd dokładnie określona, dlatego pierwszym celem przeprowadzonych badań było określenie w jaki sposób aktywacja oraz zablokowanie receptora 5-HT<sub>7</sub> wpływa na aktywność neuronów serotonergicznycch DRN, a także na przekaźnictwo pobudzające oraz hamujące w obrębie grzbietowego jądra szwu.

Chroniczny stres oraz długotrwałe podniesiony poziom glukokortykoidów są istotnymi czynnikami ryzyka w rozwoju chorób afektywnych (Lopez-Duran i in., 2009). W wyniku długotrwałego działania stresu lub działania zbyt intensywnego stresora dochodzi do zaburzeń w prawidłowym funkcjonowaniu osi podwzgórza – przysadka mózgowa – nadnercza (PPN), stanowiącej główny system regulacji odpowiedzi stresowej

Wpływ stresu na modulację aktywności neuronów i przekaźnictwa synaptycznego  
przez receptor 5-HT<sub>7</sub> w grzbietowym jądrze szwu szczura

organizmu (Murray i in., 2008). Utrzymujący się podwyższony poziom glukokortykoidów prowadzi następnie do zaburzeń w funkcjonowaniu obszarów mózgu zaangażowanych w regulację reakcji stresowej, takich jak kora przedczołowa, hipokamp czy ciało migdałowate (McEwen, 2012). Istotną rolę w regulacji odpowiedzi stresowej odgrywa także grzbietowe jądro szwu (Lowry i in., 2008). Wpływowi stresu na aktywność neuronów DRN poświęcono jak dotąd nieliczne badania. Biorąc pod uwagę kluczową rolę nieprawidłowej funkcji układu serotonergicznego w szeregu zaburzeń związanych ze stresem wydaje się prawdopodobne, że w warunkach stresu może dochodzić do zmian w zakresie przekaźnictwa synaptycznego i pobudliwości neuronów w DRN. Dlatego kolejnym celem badań prowadzonych w ramach niniejszej pracy doktorskiej było określenie, w jaki sposób trzy różne zwierzęce modele stresu, takie jak model wielokrotnych podań kortykosteronu, model stresu unieruchomienia oraz model stresu prenatalnego, wpływają na podstawowe własności elektrofizjologiczne i pobudliwość neuronów serotonergicznym oraz na przekaźnictwo pobudzające i hamujące w DRN. Ponieważ istotną rolę w modulacji aktywności neuronów DRN i przekaźnictwa synaptycznego może pełnić receptor 5-HT<sub>7</sub>, celem prowadzonych badań było także określenie zmian w efektach aktywacji tego receptora, do jakich może dochodzić pod wpływem stresu.

Dotychczasowe badania wskazują na możliwe powiązanie receptora 5-HT<sub>7</sub> z patofizjologią chorób afektywnych (Bonaventure i in., 2007; Guscott i in., 2005). Związki należące do grupy antagonistów tego receptora wykazują potencjalne działanie przeciwdepresyjne w testach behawioralnych (Mnie-Filali i in., 2011; Guscott i in., 2005). W oparciu o dostępne dane literaturowe postawiono hipotezę, iż zastosowanie selektywnego antagonisty receptora 5-HT<sub>7</sub> może odwracać lub blokować efekty działania stresu w grzbietowym jądrze szwu. Kolejnym celem pracy doktorskiej było zweryfikowanie postawionej hipotezy, poprzez zastosowanie związku SB 269970, u zwierząt poddanych działaniu wielokrotnych podań kortykosteronu, stresu unieruchomienia oraz stresu prenatalnego. Przeprowadzone badania wykazały, że aktywacja receptora 5-HT<sub>7</sub> skutkuje zmniejszeniem aktywności projekcyjnych neuronów serotonergicznym w grzbietowym jądrze szwu. Jednocześnie zaobserwowano również zmniejszenie częstotliwości generowania spontanicznych postsynaptycznych prądów

Wpływ stresu na modulację aktywności neuronów i przekaźnictwa synaptycznego przez receptor 5-HT<sub>7</sub> w grzbietowym jądrze szwu szczura

pobudzających (sEPSC) oraz zwiększenie częstotliwości generowania spontanicznych postsynaptycznych prądów hamujących (sIPSC), rejestrowanych z tych neuronów. Zablokowanie receptora 5-HT<sub>7</sub> wywołało nasilenie aktywności neuronów serotonergicznych oraz osłabiło wejścia hamujące docierające do tych neuronów, nie wpływając na przekaźnictwo pobudzające. Zarówno aktywacja, jak i zablokowanie receptora 5-HT<sub>7</sub> nie wpłynęły na pobudliwość badanych neuronów serotonergicznych. Uzyskane wyniki zdają się potwierdzać hipotezę, iż receptor 5-HT<sub>7</sub> w obrębie DRN jest zlokalizowany na interneuronach GABAergicznych i w sposób pośredni reguluje aktywność neuronów serotonergicznych.

Wielokrotne podania kortykosteronu spowodowały nasilenie glutaminianergicznego przekaźnictwa pobudzającego oraz osłabienie GABAergicznego przekaźnictwa hamującego w grzbietowym jądrze szwu. Nie zaobserwowano zmian w podstawowych parametrach elektrofizjologicznych oraz pobudliwości neuronów serotonergicznych. U zwierząt otrzymujących kortykosteron dwa razy dziennie przez 14 kolejnych dni zaobserwowano także zmniejszenie reaktywności receptora 5-HT<sub>7</sub> w DRN. Podania selektywnego antagonisty receptora 5-HT<sub>7</sub>, SB 269970, powtarzane przez 7 dni i zapoczątkowane ósmego dnia podań kortykosteronu, zablokowały powstanie zmian w przekaźnictwie pobudzającym i hamującym oraz zmian w reaktywności receptora 5-HT<sub>7</sub> w DRN, wywołanych działaniem kortykosteronu.

Stres unieruchomienia, powtarzany dwa razy dziennie przez 3 kolejne dni, obniżył pobudliwość neuronów serotonergicznych. Zaobserwowano także zmiany w przekaźnictwie pobudzającym, które przejawiały się zwiększeniem częstotliwości oraz skróceniem czasu narastania i stałej czasowej zanikania sEPSC. Stres unieruchomienia nie wpłynął jednak istotnie na hamujące przekaźnictwo GABAergiczne w DRN. U zwierząt poddanych działaniu stresu unieruchomienia zaobserwowano również niewielkie zmiany w modulacji przekaźnictwa pobudzającego w DRN, zależnej od receptora 5-HT<sub>7</sub>. Podania SB 269970, towarzyszące stresowi unieruchomienia, zapobiegły powstaniu zmian w pobudliwości neuronów serotonergicznych oraz częściowo zablokowały zmiany powstałe w przekaźnictwie pobudzającym w DRN. Podania SB 269970 zablokowały również zmiany w modulacji przekaźnictwa pobudzającego przez receptor

Wpływ stresu na modulację aktywności neuronów i przekąźnictwa synaptycznego przez receptor 5-HT<sub>7</sub> w grzbietowym jądrze szwu szczura

5-HT<sub>7</sub> obserwowane u zwierząt poddanych działaniu 3-dniowego stresu unieruchomienia.

U zwierząt stresowanych prenatalnie zaobserwowano nasilone przekąźnictwo pobudzające oraz osłabione przekąźnictwo hamujące w neuronach serotonergicznym grzbietowego jądra szwu. Stres prenatalny nie wpłynął na podstawowe parametry elektrofizjologiczne i pobudliwość badanych komórek. Istotne zmiany w modulacji przekąźnictwa pobudzającego i hamującego, zależnej od receptora 5-HT<sub>7</sub>, obserwowano u potomstwa matek stresowanych w czasie ciąży, w porównaniu do potomstwa matek kontrolnych. Zastosowanie antagonisty receptora 5-HT<sub>7</sub> u młodych dorosłych osobników całkowicie zniosło efekt działania stresu prenatalnego na przekąźnictwo pobudzające w neuronach serotonergicznym DRN oraz częściowo wzmocniło osłabione stresem prenatalnym przekąźnictwo hamujące. Podania SB 269970 przywróciły także reaktywność receptora 5-HT<sub>7</sub> do poziomu obserwowanego u zwierząt kontrolnych.

Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują na istotną rolę receptora 5-HT<sub>7</sub> w modulacji przekąźnictwa synaptycznego oraz aktywności neuronów serotonergicznym w grzbietowym jądrze szwu. Zróżnicowane modele stresu, zastosowane w przeprowadzonych badaniach, wywołały istotne zmiany w przekąźnictwie synaptycznym oraz jego modulacji przez receptor 5-HT<sub>7</sub> w DRN. Większość zaobserwowanych zmian została zablokowana lub odwrócona przy pomocy selektywnego antagonisty receptora 5-HT<sub>7</sub> – SB 269970. Wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach mogą mieć istotne znaczenie dla opracowania nowych, skuteczniejszych form terapii chorób, u podłoża których leży stres.