

mgr Patrycja Mordalska

„Ekspresja białek postsynaptycznych w neurorozwojowym modelu schizofrenii”

promotor: dr hab. Marzena Maćkowiak

recenzenci: prof. dr hab. Jolanta Skangiel-Kramska, dr hab. Grzegorz M. Wilczyński

Streszczenie:

Prawidłowe funkcjonowanie mózgu zależne jest od równowagi pomiędzy glutaminianergiczną transmisją pobudzającą, a GABAergiczną transmisją hamującą. Zachwianie tej równowagi wydaje się być przyczyną wielu chorób, takich jak schizofrenia, autyzm, syndrom Touretta oraz zespół Downa [Deidda, 2014]. W niniejszej pracy analizowano ekspresję wybranych białek postsynaptycznych synapsy pobudzającej i hamującej w neurorozwojowym modelu schizofrenii. Model ten opierał się na postnatalnych podaniach CGP37849 (CGP), kompetycyjnego antagonisty receptora NMDA, w którym u dorosłych zwierząt już wcześniej wykazano liczne zaburzenia charakterystyczne dla schizofrenii [Wędzony, 2008, 2005]. Badania przedstawione w niniejszej pracy prowadzono w okresie poprzedzającym wystąpienie objawów psychozomimetycznych (zwierzęta młodociane, 35-dniowe) oraz w czasie ich występowania (zwierzęta dorosłe, 60-dniowe) w celu poznania dynamiki rozwoju zaburzeń na poziomie behawioralnym jak i biochemicznym.

Badania behawioralne obejmowały analizę zachowań związanych z negatywnymi symptomami schizofrenii, takimi jak sprawność procesu sensorymotorycznego bramkowania oraz rodzaj interakcji socjalnych. Wyniki testów pokazały, że postnatalna blokada receptora NMDA powoduje zaburzenia obu tych procesów u zwierząt dorosłych, ale nie młodocianych. Ponadto badano sprawność pamięci emocjonalnej awersyjnej w testach warunkowania strachu. Wykazały one występowanie zaburzeń pamięci już u zwierząt młodocianych i utrzymywanie się ich aż do dorosłości, co mogłoby wskazywać na rozwijającą się dysfunkcję przyśrodkowej kory przedczołowej (mPFC) oraz hipokampa (HP) w grupie zwierząt traktowanych CGP.

Badania biochemiczne prowadzono w mPFC i HP zwierząt młodocianych oraz dorosłych – na poziomie ekspresji mRNA przy pomocy metody qRT-PCR, a poziom białka analizowano metodą Western blot we frakcji membranowej i cytoplazmatycznej, oraz metodami immunohistochemicznymi. Immunohistochemiczna analiza parametrów neuroanatomicznych nie wykazała zmian w objętości mPFC i HP oraz w liczbie komórek parwalbuminopozytywnych w badanych strukturach ani u zwierząt młodocianych ani

dorosłych postnatalnie traktowanych CGP. Jednocześnie stwierdzono zmiany w poziomie białka, ale nie mRNA, dekarboksylaz kwasu glutaminianowego (GAD67 i GAD65) głównie w HP zwierząt młodocianych, ale nie dorosłych.

W modelu schizofrenii wywołanym postnatalnymi podaniami CGP stwierdzono zaburzenia ekspresji białek adhezji komórkowej z rodzin NCAM oraz neuroligin, kluczowych dla formowania nowych synaps oraz rearanżacji już istniejących. W toku przeprowadzonych badań wykazano zaburzenia ekspresji białek adhezji występujących w synapsach pobudzających (neuroliginy1 - NL1), hamujących (neuroliginy2 - NL2), oraz w obu tych typach (NCAM180). Spadki poziomu białka NCAM były charakterystyczne dla mPFC zwierząt dorosłych, natomiast wzrosty białka NL2 występowały tylko w mPFC zwierząt młodocianych. Z kolei zmiany NL1 dotyczyły wzrostu poziomu mRNA zarówno w mPFC jak i HP zwierząt dorosłych. Analiza immunohistochemiczna fenotypu komórek pozytywnych na NL1 i NL2 wykazała, że występują one odpowiednio na neuronach glutaminianergicznym oraz GABAergicznym. Ponadto stwierdzono, że komórki NL2-pozytywne należą przede wszystkim do subpopulacji interneuronów z ekspresją cholecystokininy kalbindyny. Postnatalna blokada receptora NMDA prowadziła również do zmian w ekspresji białek postsynaptycznych charakterystycznych dla synapsy pobudzającej. Zaburzenia w ekspresji białka rusztowania synapsy pobudzającej PSD95 oraz podjednostek receptorów glutaminianergicznym AMPA oraz NMDA odnotowano zarówno u zwierząt młodocianych, jak i dorosłych. Zaburzenia te obserwowano w mPFC oraz HP, przy czym obraz zmian różnił się pomiędzy tymi strukturami w zależności od wieku zwierząt. W obu strukturach obserwowano spadek poziomu białka podjednostki GluA2 receptora AMPA u zwierząt młodocianych. Ponadto w mPFC zwierząt dorosłych obserwowano spadki poziomu białka PSD95 oraz fosforylowanej formy podjednostki GluN1 (pGluN1) receptora NMDA. Z kolei w młodocianym HP stwierdzono wzrost poziomu białka GluN2A oraz pGluN1, przy jednoczesnym spadku poziomu białka GluA1.

W badanym modelu schizofrenii stwierdzono również zmiany ekspresji białek charakterystycznych dla synapsy hamującej. W mPFC zwierząt młodocianych traktowanych postnatalnie CGP stwierdzono jednoczesny wzrost poziomu białka gefryny, kolbistyny oraz wspomnianej wcześniej NL2 – białek uczestniczących w formowaniu synapsy hamującej i współtworzących kompleks lokujący receptory GABAA w błonie synaptycznej. Badania immunohistochemiczne potwierdziły wzrost poziomu białka NL2 w neuropilu mPFC zwierząt młodocianych, któremu towarzyszył spadek kolokalizacji z gefryną. Dodatkowo obserwowano zaburzenia ekspresji podjednostek receptora GABAA, przy czym u zwierząt

młodocianych zarówno w mPFC jak i w HP dotyczyły one podjednostek synaptycznych $\alpha 2$ i $\gamma 2$, natomiast u zwierząt dorosłych obserwowano zmiany podjednostek $\alpha 2$ i $\alpha 4$ w mPFC przy braku zmian w HP.

W modelu schizofrenii opartym na postnatalnych podaniach CGP stwierdzono zaburzenia ekspresji białek postsynaptycznych już w okresie poprzedzającym pojawienie się objawów psychozomimetycznych. Obserwowane zaburzenia w komponentach synapsy pobudzającej oraz hamującej zlokalizowano zarówno w mPFC jak i HP. Powyższe wyniki wskazują na dynamiczny rozwój zmian, które mogą prowadzić do zaburzeń transmisji glutaminianergicznej i GABAergiczej w badanym modelu schizofrenii.