

neurobiologia

GDY MÓZG NIE ZNAJDUJE SPOKOJU

O tym, jak na organizm wpływa przewlekły stres, mówi **dr Emilia Rejmak-Kozicka** z Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego PAN.

ACADEMIA: Bada pani wpływ przewlekłego stresu na funkcje poznawcze i strukturę mózgu. Co to jest stres i kiedy kwalifikuje się go jako przewlekły?

EMILIA REJMAK-KOZICKA: Termin „stres” został wprowadzony do piśmiennictwa naukowego przez Hansa Selyego, pochodzącego z Węgier kanadyjskiego fizjopatologa i endokrynologa. Według niego tego

Dr Emilia Rejmak-Kozicka

jest członkinią zespołu Pracowni Neurobiologii IBD PAN. Ubiegłoroczna laureatka konkursu Start FNP, jedna z głównych autorów publikacji o przewlekłym stresie w „Nature Communications”. Prowadzi badania nad plastycznością synaptyczną, związaną z procesem uczenia się i zapamiętywania w warunkach fizjologicznych i patologicznych.

e.rejmak@nencki.gov.pl



rodzaju napięcie to niespecyficzna reakcja organizmu będąca odpowiedzią na określony rodzaj bodźców, zwanych stresorami [o jej fizjologicznych aspektach mówiła w „Academii” 2/2016 dr Magdalena Markowska – red.].

Obecnie w literaturze nie istnieje jedna precyzyjna definicja pojęcia stresu. Stresorami, czyli czynnikami wywołującymi ten stan, mogą być dowolne bodźce zaburzające homeostazę organizmu. Można je podzielić na cztery główne kategorie: fizyczne (np. unieruchomienie, hałas, nadmierne zimno lub gorąco), psychologiczne (wpływające na procesy związane z emocjami, skutkujące pojawieniem się niepokoju, strachu, frustracji), socjalne (np. przebywanie zwierzęcia na terytorium innego osobnika) oraz stresory zaburzające homeostazę metabolizmu i sercowo-naczyniową (wysiłek fizyczny albo hipoglikemia). Ze względu na czas działania dzielimy je zaś na dwie kategorie: ostre,

– zewnątrzkomórkowego enzymu trawiącego białka, wydzielanego przez synapsy – ulega wahaniom pod wpływem przewlekłego stresu?

Tak, ilość MMP-9 wzrasta pod wpływem przewlekłego stresu. MMP-9 należy do grupy enzymów proteolitycznych, których podstawową funkcją jest degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej (przez co środowisko jest bardziej podatne na zmiany siły połączeń synaptycznych) oraz cięcie wielu białek błonowych, co prowadzi do zmiany organizacji synaps. W mózgu MMP-9 ulega ekspresji na niskim poziomie i jest uwalniana na synapsie dopiero pod wpływem stymulacji neuronalnej, na przykład takiej, jaką stanowi przewlekły stres. MMP-9 w postaci nieaktywnego proenzymu wydzielana jest do macierzy zewnątrzkomórkowej, czyli przestrzeni pomiędzy komórkami w mózgu, gdzie dochodzi do aktywacji tej proteazy. Konsekwencją tych zdarzeń jest fragmentacja cząsteczek adhezyjnych, czyli białek znajdujących się na powierzchni komórki mogących tworzyć różne typy połączeń pomiędzy komórkami, komórkami a makrocząsteczkami macierzy zewnątrzkomórkowej oraz składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej a cytoszkieletem aktynowym. Stanowi to jeden z głównych mechanizmów, za pomocą którego metaloproteazy wpływają na wspomnianą plastyczność synaptyczną.

Jak dochodzi do tego, że MMP-9 tnie nektynę-3 – białko łączące dwie komórki mózgowe?

Reakcję tę zapoczątkowuje wynikający z przewlekłego stresu wzrost stężenia glutaminianu, neuroprzebieżnika pobudzającego w układzie nerwowym. Następnie pobudzenie receptorów NMDA, zaangażowanych w mechanizmy plastyczności synaptycznej, skutkuje wydzieleniem MMP-9 do macierzy zewnątrzkomórkowej. Dochodzi tam do aktywacji tej proteazy i fragmentacji nektyny-3, białka łączącego błonę pre- i postsynaptyczną synapsy. Nasze wyniki pokazały zależny od MMP-9 wzrost cięcia nektyny-3 we fragmencie CA1 hipokampa szczurów poddanych procedurze przewlekłego stresu.

Jak fragmentacja nektyny-3 wpływa na funkcjonowanie mózgu?

Nektyna-3 poprzez interakcję z cytoszkieletem aktynowym oraz wewnątrzkomórkowymi szlakami przekazywania sygnału odgrywa kluczową rolę w tworzeniu i stabilizacji synaps. Zrozumienie mechanizmów kontrolujących proteolityczne cięcie cząsteczek adhezyjnych jest bardzo ważne, ponieważ odgrywają one nie tylko rolę rusztowania dla szczeliny synaptycznej, ale przede wszystkim są zdolne do modulowania elementów funkcjonalnych i strukturalnych plastyczności synaptycznej w warunkach zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych. Zaburzenia ekspresji oraz właściwego funkcjonowania cząsteczek adhezji komórkowej, do których należy nektyna-3,

”Narażenie na przewlekły stres jest istotnym czynnikiem wyzwalającym rozwój zaburzeń takich jak na przykład depresja.

będące pojedynczym epizodem, oraz właśnie chroniczne, przewlekłe, które mogą pojawiać się okresowo i mieć przedłużoną ekspozycję.

Dlaczego pani badania dotyczyły stresu przewlekłego, a nie ostrego?

Bo właśnie on ma wpływ na plastyczność synaptyczną, czyli zdolność układu nerwowego do modyfikowania aktywności i organizacji sieci neuronalnej w zależności od pojawiających się bodźców w środowisku zewnętrznym i wewnętrznym organizmu. Przewlekły stres, w przeciwieństwie do ostrego, wiąże się ze zmianami spowodowanymi zaburzeniami funkcjonowania osi podwzgórze-przysadka-nadnercza i związanym z tym zwiększonym wydzielaniem kortykoliberyny oraz ekscytotoksycznym działaniem glutaminianu w mózgu. To na badaniu takich zmian najbardziej nam zależało. Narażenie na przewlekły stres jest istotnym czynnikiem wyzwalającym rozwój zaburzeń neuropsychologicznych, takich jak na przykład depresja, która według Światowej Organizacji Zdrowia jest czwartą najpoważniejszą chorobą na świecie.

Czy ilość metaloproteazy macierzy zewnątrzkomórkowej MMP-9

MECHANIZMY STRESU

leżą u podstaw zaburzeń morfologicznych, utraty dobrze wykształconych połączeń międzykomórkowych i dezorganizacji cytoszkieletu aktywnego. Zmiany molekularne pod wpływem przewlekłego stresu mają odzwierciedlenie w behawiorze zwierząt. Wpływają na wzrost agresywności i nieprawidłowe zachowania społeczne. Co ciekawe, podanie inhibitora MMP-9 bezpośrednio do fragmentu CA1 hipokampa, czyli obszaru, w którym wykryliśmy największy wzrost aktywności MMP-9 pod wpływem stresu, zapobiega wystąpieniu wspomnianych zaburzeń.

Jak przebiegały pani badania na hodowlach komórkowych in vitro?

Badania na neuronach w hodowli in vitro pozwoliły nam na dokładne zbadanie związku proteolizy (cięcia, fragmentacji) nektyny-3 z aktywnością MMP-9, minimalizując znacznie liczbę zwierząt użytych do eksperymentu. Otrzymane wyniki jednoznacznie potwierdziły zaangażowanie tej proteazy w mechanizmy powodujące fragmentację nektyny-3. Ponadto wykazaliśmy, że proteoliza nektyny-3 zależy od obecności Ca^{2+} /kalmoduliny (białka wiążącego wapń) oraz aktywacji receptora NMDA.

Jak wyglądają zwierzęce modele przewlekłego stresu, które również wykorzystata pani w badaniach?

Model, jaki wykorzystaliśmy, został wybrany we współpracy z prof. Carmen Sandi z Politechniki Łódzkiej, której zespół odgrywa wiodącą rolę w świecie w badaniach stresu. Do doświadczenia wybraliśmy 21-dniowy model stresu wywołanego unieruchomieniem, ponieważ jest on najlepiej scharakteryzowany pod względem zmian funkcjonalnych i strukturalnych w hipokampie. Wykazano, że ten rodzaj stresu wywołuje znaczne zmiany w komórkach nerwowych, w szczególności hamuje neurogenezę, czyli proces powstawania nowych neuronów.

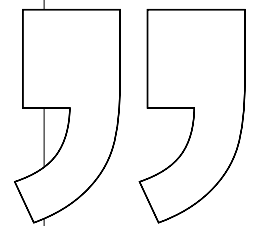
Dlaczego skupiła się pani na badaniu cięcia nektyny-3 pod wpływem przewlekłego stresu akurat w hipokampie?

To dlatego, iż jest to obszar mózgu o kluczowym znaczeniu w odpowiedzi na stres oraz w rozwoju depresji. Hipokamp, odpowiedzialny głównie za pamięć, wykazuje znaczną podatność na stres, co przejawia się zmianami strukturalnymi w sieci neuronalnej oraz zmianą liczby i kształtu synaps pobudzających. Niektóre z tych efektów wpływają również na efektywność pobudzenia receptorów glutaminianergicznych, co z kolei wpływa na proces uczenia się i pamięci oraz zachowania społeczne.

Jakie zaburzenia psychiczne powstają pod wpływem zmian molekularnych spowodowanych przewlekłym stresem?

Przewlekła ekspozycja na stres jest istotnym czynnikiem prowadzącym do rozwoju wielu chorób mózgu, jak na przykład wspomnianej już depresji. Na pewnych etapach życia choroba ta dotyka nawet kilkanaście procent populacji, a jej koszty są ogromne i chodzi nie tylko o leczenie, lecz także o niezdolność do normalnego funkcjonowania w społeczeństwie oraz jej konsekwencje – na przykład samobójstwa czy wynikłą z nieudanych prób niepełnosprawność. Pomimo że depresja stanowi poważny problem społeczny, mechanizm jej powstawania nie jest dokładnie poznany, a dostępne leki charakteryzują się opóźnionym działaniem i poważnymi skutkami ubocznymi. Co więcej, depresja wiąże się z występowaniem wielu innych zaburzeń psychicznych, co czyni leczenie jeszcze bardziej skomplikowanym. Dlatego też poznanie molekularnych mechanizmów stresu przybliży nas do odkrycia odpowiednich le-

Depresja dotyka nawet kilkanaście procent populacji. Jej konsekwencje to m.in. samobójstwa czy wynikła z prób niepełnosprawność.



ków i zastosowania skutecznej terapii leczenia chorób, takich jak właśnie depresja.

Pracuje pani również nad wpływem MMP-9 na powstanie i rozwój padaczki u zwierząt. Na jakim etapie są te badania?

Wiele danych świadczy o istotnej roli MMP-9 w padaczce. Biorąc pod uwagę enzymatyczny i zewnątrzkomórkowy charakter MMP-9, wydaje się ona atrakcyjna terapeutycznie. Niespecyficzne inhibitory MMP-9 były testowane w innych jednostkach chorobowych, np. nowotworach. Istnieje jednak duża pula leków nietestowanych w przypadku padaczki. Obecnie w projekcie badań stosowanych, finansowanym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, analizujemy takie substancje w leczeniu epileptogenezy. Pomimo wprowadzenia w ostatnich latach wielu nowych leków przeciwpadaczkowych, nadal około 40% chorych pozostaje lekoopornych. Dla nich poszukiwanie nowych leków przeciwpadaczkowych wydaje się jedynym sposobem na to, aby kontrolować napady i umożliwić w miarę normalne funkcjonowanie w społeczeństwie.

Z DR EMILIĄ REJMAK-KOZICKĄ
 ROZMAWIAŁA ANNA KILIAN
 ZDJĘCIE JAKUB OSTAŁOWSKI