

Temat pracy: „Rola układu endokannabinoidowego w patogenezie depresji i w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych”

Autor: Irena Smaga-Maślanka

Promotor: Prof. dr hab. Małgorzata Filip

Promotor pomocniczy: dr Beata Bystrowska

Depresja jest najczęstszą przyczyną niepełnosprawności i czwartą najważniejszą przyczyną globalnego obciążenia chorobami w XXI wieku. Pomimo licznych badań przedklinicznych i klinicznych patofizjologia tego zaburzenia mózgu pozostaje niejasna. Z jednej strony, przepisywane leki przeciwdepresyjne nie zawsze spełniają oczekiwania pacjentów i lekarzy, a z drugiej - chociaż rola stresu, czynników zakaźnych i genetycznych w depresji została dobrze udokumentowana - przyczyna(y) choroby nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. W klinice są stosowane leki przeciwdepresyjne o różnych mechanizmach działania, co sugeruje, że nie interakcja leku z molekułą docelową odpowiada za skuteczność terapeutyczną, a raczej wtórny skutek tej interakcji. Układ endokannabinoidowy jest zaangażowany w modulowanie reakcji emocjonalnych, procesów pamięci i uczenia się, a kilka wcześniejszych badań powiązało jego potencjalny udział w patogenezie depresji. Co więcej, sugeruje się, że mechanizmy przez które ten układ może ingerować w zaburzenia emocjonalne w depresji związane są z neuroanatomiczną lokalizacją receptorów CB₁ w strukturach mózgu zaburzonych w chorobie, z modulowaniem transmisji monoaminergicznej, z hamowaniem aktywacji osi stresu i/lub promowaniem neuroplastyczności w mózgu. Pojawiające się farmakologiczne i genetyczne badania przedkliniczne z zastosowaniem kanabinoidów w modelach depresji nie wyjaśniają niestety dostatecznie zależności układ endokannabinoidowy–depresja–mechanizmy działania leków przeciwdepresyjnych.

Przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej było wyjaśnienie roli układu endokannabinoidowego (tj. endogennych ligandów, enzymów uczestniczących w metabolizmie endokannabinoidów i receptorów CB) w patogenezie depresji z wykorzystaniem jednych z najlepszych zwierzęcych modeli depresji (szczury Wistar Kyoto i usunięcie opuszek węchowych- bulbektomia). Analizie poddane zostały również biomarkery układu endokannabinoidowego indukowane jednorazowym lub wielokrotnym podaniem leków przeciwdepresyjnych (IMI, ESC, TIA) oraz związków, które w ostatnim czasie wykazały aktywność przeciwdepresyjną w badaniach przedklinicznych (NAC, URB597) w wybranych obszarach mózgu szczura. W dalszej części badań określono (1) rolę układu endokannabinoidowego w mechanizmie działania leków przeciwdepresyjnych, (2) trwałość tych efektów po 10-ciu dniach odstawienia chronicznie podawanych leków oraz (3) specyficzność interakcji leków przeciwdepresyjnych z układem endokannabinoidowym przy użyciu selektywnych antagonistów receptorów CB₁ i CB₂. W końcowej części zweryfikowano hipotezę, że związek zwiększający transmisję synaptyczną w układzie endokannabinoidowym (przez blokowanie metabolizmu anandamidu) i charakteryzujący się działaniem przeciwdepresyjnym przy równoczesnym braku działania nagradzającego u zwierząt, naśladuje zmiany funkcjonalne i wywołuje zmiany adaptacyjne w układzie endokannabinoidowym analogiczne jak badane leki przeciwdepresyjne.

W niniejszej pracy w zwierzęcych modelach depresji wykazano znaczne różnice w układzie endokannabinoidowym. U szczurów Wistar Kyoto zaobserwowano wzrost poziomu anandamidu wraz ze wzrostem ekspresji enzymu syntetyzującego NAPE-PLD, spadek 2-AG

wynikający ze wzrostu ekspresji MAGL w korze przedczołowej oraz spadek poziomu anandamidu ze wzrostem ekspresji FAAH w prążkowie grzbietowym. Powyższym zmianom towarzyszył wzrost gęstości i ekspresji receptorów CB₁ w większości badanych struktur mózgu oraz nasilenie ekspresji receptorów CB₂ w grzbietowym prążkowie i mózdku. Natomiast usunięcie opuszek węchowych spowodowało obniżenie poziomu anandamidu w korze przedczołowej, hipokampie i prążkowie grzbietowym, natomiast w jądrze półleżącym jego poziom wzrastał. U tych ostatnich zwierząt poziom 2-AG wzrastał w korze przedczołowej, choć ulegał obniżeniu w jądrze półleżącym przegrody. Zmiany poziomów endokannabinoidów u szczurów bulbektomizowanych wynikały ze zmienionej ekspresji enzymów metabolizujących te lipidy. I tak, w korze przedczołowej zaobserwowano spadek ekspresji NAPE-PLD i wzrost FAAH oraz wzrost ekspresji DAGL α i spadek MAGL, wzrost ekspresji FAAH w hipokampie oraz wzrost ekspresji NAPE-PLD i MAGL w jądrze półleżącym przegrody. Dodatkowo u tych zwierząt wykazano spadek ekspresji receptorów CB₁ w hipokampie, prążkowie grzbietowym i jądrze półleżącym przegrody oraz spadek ekspresji receptorów CB₂ w korze przedczołowej i hipokampie, choć gęstość receptorów CB₁ w badaniach autoradiograficznych uległa jedynie zaburzeniu w korze prelimbiczej i prążkowie grzbietowym. Wspólną zmianą dla obu modeli jest osłabienie sygnalizacji endokannabinoidowej (anandamidu) w prążkowie grzbietowym, co może indukować charakterystyczny objaw depresji – anhedonię. W pozostałych badanych strukturach mózgu szczurów obraz neurochemicznych zmian w układzie endokannabinoidowym jest różny, zależny od badanej struktury oraz od czynnika indukującego dany model depresji, tj. czynnik genetyczny vs chirurgiczna ingerencja.

Leki/zwiazki przeciwdepresyjne powodowały szereg zmian poziomu endokannabinoidów, które były w większości przypadków uwarunkowane zmianą ekspresji enzymów metabolizujących endokannabinoidy. W wyniku podań jednorazowych leków/zwiazków przeciwdepresyjnych (IMI lub NAC) zaobserwowano wzrost poziomu anandamidu w hipokampie i prążkowie grzbietowym oraz zmiany w poziomie 2-AG w korze przedczołowej po podaniach NAC, korze czołowej po podaniach ESC i IMI (ze wzrostem ekspresji DAGL α), prążkowie grzbietowym po podaniach URB597 i mózdku po podaniach IMI lub NAC. Chroniczne podania wszystkich leków/zwiazków przeciwdepresyjnych indukowały wzrost poziomu anandamidu w hipokampie i prążkowie grzbietowym oraz zwiększenie jego poziomu w korze czołowej po podaniach NAC i mózdku po podaniach URB597. Podwyższony poziom anandamidu wynikał ze zwiększonej ekspresji NAPE-PLD w korze czołowej, hipokampie i prążkowie grzbietowym (po podaniach NAC lub ESC) lub ze zmniejszonej ekspresji FAAH w hipokampie i prążkowie grzbietowym (po podaniach odpowiednio, URB597 lub IMI, ESC, NAC). Poziom 2-AG wzrastał w korze czołowej (IMI, TIA, NAC), hipokampie (ESC) i prążkowie grzbietowym (wszystkie leki/zwiazki) lub malał w korze przedczołowej (ESC, NAC), czołowej (ESC), jądrze półleżącym przegrody (NAC) i mózdku (IMI, ESC, NAC). Te ostatnie zmiany były wynikiem zmian ekspresji enzymów uczestniczących w metabolizmie 2-AG, zarówno w poziomie ekspresji enzymu syntetyzującego 2-AG- DAGL α , jak i w poziomie enzymu degradującego- MAGL. Leki/zwiazki przeciwdepresyjne zmieniały gęstość i ekspresję receptorów CB. Wzrost gęstości receptorów CB₁ był widoczny w strukturach korowych po chronicznych podaniach ESC, TIA i URB597 i w obszarach hipokampa po podaniach IMI, ESC, TIA i NAC, przy równoczesnym spadku gęstości tych receptorów w prążkowie grzbietowym po podaniach IMI i ESC oraz w jądrze półleżącym przegrody w wyniku podań IMI. Obserwowane powyżej zmiany na poziomie receptorów CB₁ potwierdzono przy pomocy innej techniki badawczej (pomiar ekspresji receptorów). Po raz pierwszy wykazano także zmiany w poziomie ekspresji receptorów CB₂ po lekach/zwiazkach przeciwdepresyjnych; wzrost ekspresji był obserwowany w strukturach korowych i hipokampie po podaniach ESC, TIA lub NAC, a

spadek ekspresji był odnotowany w prążkowie grzbietowym, jądrze półleżącym przegrody i mózdzku po podaniach IMI.

Efekty leków/związków przeciwdepresyjnych na układ endokannabinoidowy były krótkotrwałe, po okresie 10-cio dniowego odstawienia IMI, TIA, NAC lub URB597 poziomy endokannabinoidów wracały do poziomu grup kontrolnych. Podwyższony poziom tych neuroprzekaźników został zachowany jedynie w wyniku wcześniejszych podań ESC w hipokampie i prążkowie nawet po 10-cio dniowym odstawieniu leku.

Wykazano specyficzność efektów ujawniających się podczas chronicznych podań leków/związków przeciwdepresyjnych związaną z aktywnością receptorów CB₁ i CB₂. Jedynie zmiany poziomu 2-AG w prążkowie grzbietowym po podaniach ESC są niezależne od aktywacji receptorów CB₁, a zmiany poziomu tego neuroprzekaźnika w korze czołowej i hipokampie (odpowiednio, po podaniach IMI i TIA lub ESC) oraz zmiany poziomu anandamidu w prążkowie grzbietowym i korze czołowej (odpowiednio, po podaniach IMI, ESC, TIA lub NAC) nie były zależne od aktywacji receptorów CB₂.

Podsumowując, w zastosowanych zwierzęcych modelach depresji wykazano różnokierunkowe zmiany w obrębie układu endokannabinoidowego (na poziomie receptorów, poziomie endokannabinoidów i/lub poziomie ekspresji enzymów metabolizujących te lipidy), a zmiany te wydają się być zależne od badanej struktury mózgu oraz czynnika indukującego zaburzenie. Wspólną cechą dla obu modeli było zmniejszenie poziomu anandamidu w prążkowie grzbietowym u szczurów, co może być związane z anhedonią, jako objawem depresji, podczas gdy wszystkie chronicznie podawane leki/związki przeciwdepresyjne powodują wzrost poziomu tego neuroprzekaźnika w tej strukturze mózgu. Leki/związki przeciwdepresyjne powodują również wzrost poziomu anandamidu w hipokampie i poziomu 2-AG w prążkowie grzbietowym. W przypadku wielokrotnych podań ESC zaburzenia w układzie endokannabinoidowym utrzymują się nawet po 10-cio dniowym okresie odstawienia leku, podczas gdy zmiany po zastosowaniu innych leków/związków przeciwdepresyjnych były krótkotrwałe. Co więcej, zmiany w poziomach endokannabinoidów są w większości przypadków zależne od aktywacji obu typów receptorów CB, co wykazano z użyciem narzędzi farmakologicznych (selektywni antagoniści receptorów CB₁ i CB₂). Zmiany gęstości/ekspresji receptorów CB w mózgu u szczurów po podaniach leków/związków przeciwdepresyjnych wydają się być zależne od struktury mózgu i właściwości badanej substancji.

Badania podjęte w pracy doktorskiej przyczyniły się do zgłębienia mechanizmów zaangażowanych w patogenezę depresji oraz w mechanizm działania leków/związków przeciwdepresyjnych z uwzględnieniem wszystkich komponentów układu endokannabinoidowego. Mamy nadzieję, iż uzyskane wyniki wskażą nowe kierunki badań nad depresją z podkreśleniem roli układu endokannabinoidowego w patogenezie tego schorzenia.