

z uwagą i pobudzeniem, a badania nad ekspresją białka c-Fos pokazują aktywację neuronów w tej strukturze w sytuacjach, w których zwierzę motywowane jest pozytywnie (na przykład dąży do zdobycia pokarmu) lub, w mniejszym stopniu, gdy poznaje nowe środowisko.

W modelu opisywanym powyżej szczury-obszery nie byli bezpośrednio konfrontowani z niebezpieczeństwem. Żeby porównać aktywację ciała migdałowatego w sytuacji kontaktu z pobudzonym emocjonalnie partnerem (model społecznego przekazywania strachu) i bezpośredniej obserwacji partnera poddawanego warunkowaniu strachu, opracowaliśmy model, w którym demonstrator i obserwator znajdują się w jednej klatce rozdzielonej podziurkowaną, cienką, przezroczystą przegrodą. Obserwowaliśmy silną reakcję zamierania (charakterystyczną dla wysokiego poziomu strachu) oraz podwyższony poziom ekspresji białka c-Fos w jądrze bocznym, ale nie w jądrze środkowym obserwatorów. Wyniki te pokazują, że w przypadku konfrontacji z sytuacją, w której obserwator ma – inaczej niż w modelach społecznego przekazywania strachu – możliwość bezpośredniej obserwacji warunkowania partnera, w przeciwieństwie do modelu społecznego przekazywania strachu, pojawiają się pasywne reakcje obronne (reakcja zamierania), a jądro środkowe nie jest aktywowane. Podobne wyniki behawioralne i dotyczące roli jądra bocznego ciała migdałowatego otrzymali w 2010 roku Jeon i współpracownicy.

Podsumowując wyniki wielu badań nad ekspresją białka c-Fos w jądrze środkowym ciała migdałowatego

przeprowadzonych w naszym oraz innych laboratoriach, można stwierdzić, że wyraźny wzrost aktywacji tej struktury następuje w przypadku zachowań motywowanych pozytywnie oraz emocji przekazywanych społecznie. Pobudzenie jądra środkowego może też, choć w mniejszym stopniu, powodować ekspozycja na nowe środowisko. Można zatem postawić hipotezę, że podczas bezpośredniego zagrożenia aktywność jądra środkowego zostaje zahamowana. Obecnie trwają prace mające na celu wyjaśnienie funkcjonalnego znaczenia obwodów neuronalnych aktywowanych w jądrze środkowym ciała migdałowatego przez strach przekazywany społecznie.

Badania nad mózgowym podłożem społecznego przekazywania emocji pozwalają nam lepiej zrozumieć mechanizmy rządzące tym zjawiskiem. Proste formy empatii, takie jak zarażanie emocjonalne, stanowią prawdopodobnie ewolucyjne podłoże bardziej złożonych zachowań empatycznych obserwowanych u ludzi, a poznanie mechanizmów je kontrolujących może pomóc zrozumieć ludzkie, zaawansowane przejawy empatii. Zaburzenia empatii u ludzi prowadzą do ciężkiego upośledzenia funkcjonowania w grupie społecznej. Stąd rosnące zainteresowanie mechanizmami rządzącymi przetwarzaniem emocji społecznych przez mózg. Ponieważ zaburzenia reakcji empatycznych towarzyszą wielu chorobom psychicznym, na przykład można je zaobserwować u osób o cechach autystycznych, schizofreników, czy psychopatów, badania podobne do tu opisanych mogą przyczynić się do wyjaśnienia podłoża zaburzeń emocjonalnych obserwowanych w tych chorobach.

Karolina Rokosz, Ewelina Knapska. Laboratorium Neurobiologii Emocji, Zakład Neurofizjologii, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN im. M. Nenckiego w Warszawie. E-mail: k.rokosz@nencki.gov.pl



## GLEJ - WRÓG CZY PRZYJACIEL?

Joanna Mika (Kraków)

Pozornie wydaje się bardzo logiczne, że neurony są najważniejszym elementem składowym układu nerwowego, ponieważ to właśnie one przewodzą impulsy elektryczne i przetwarzają informacje napływające do mózgu, należy jednak pamiętać, że w tkance nerwowej znajduje się wiele innych typów komórek, z których każda ma do spełnienia ważne funkcje. Te komórki pozostają ze sobą w złożonych relacjach funkcjonalnych i strukturalnych, stąd też wielu autorów uważa, że rozdzielanie układu nerwowego na dwie tkanki jest nieuzasadnione i w związku z tym przyjmują istnienie w układzie nerwowym

tylko jednej tkanki nerwowej, którą tworzą zarówno komórki nerwowe, jak i glejowe. Układ nerwowy zapewnia stały kontakt organizmu ze środowiskiem zewnętrznym oraz integrację narządów wewnętrznych. Uczestniczy w rejestrowaniu, przekazywaniu i analizie napływających informacji z zakończeń czuciowych oraz bierze udział w realizacji prawidłowych reakcji adaptacyjnych na zmieniające się warunki świata zewnętrznego i środowiska wewnętrznego. O ile rola neuronów jest stosunkowo dobrze poznana, to rola gleju wciąż wymaga intensywnych badań.

## Historia

Historia badań komórek glejowych sięga XIX wieku, kiedy to w 1836 roku Gabriel Valentin przedstawił hipotezę, że w mózgu znajdują się komórki aktywne (pobudliwe) oraz nieaktywne (niepobudliwe), a w 1851 roku Heinrich Müller uzyskał pierwsze obrazy komórek glejowych podczas badania siatkówki oka. Równoległe swoje badania prowadził Otto Deiters, który w roku 1860 przedstawił szczegółowy opis komórki nerwowej oraz opisał istnienie w mózgu komórek nieposiadających aksonów. W 1858 roku Rudolf Virchow nadał nazwę „glej” tkance wypełniającej przestrzeń pomiędzy komórkami nerwowymi. Źródłem etymologicznym nazwy stało się greckie słowo „glia” oznaczające „klej”. W swoich dalszych badaniach Rudolf Virchow zidentyfikował komórki astrocytarne przy pomocy metody opracowanej przez Camillo Golgiego. Również Carl Ludwig Schleich już w 1890 roku dostrzegł ważną rolę komórek glejowych w ośrodkowym układzie nerwowym. Uważał, że komórki glejowe i neurony są równorzędnymi partnerami i stanowią aktywne elementy komórkowe mózgu. W 1893 roku Michael von Lenhossek wprowadził do histologii termin astrocyt. W latach 1852–1934 Santiago Ramón y Cajal wyróżnił trzy podstawowe rodzaje komórek glejowych: o kształcie gwieździstym, o postaci włóknistej z licznymi wypustkami oraz o formie protoplazmatycznej. W 1906 Santiago Ramón y Cajal wraz z Camillo Golgim zostali nagrodzeni Nagrodą Nobla za pionierskie prace dotyczące struktury tkanki nerwowej, jednakże tworząc teorię działania układu nerwowego pominieli oni rolę gleju. Dopiero brat Santiago, Pedro Ramón y Cajal docenił rolę gleju i wysunął hipotezę, że te komórki tworzą rodzaj izolatora neuronów, który zapobiega niepożądanemu rozprzestrzenianiu się impulsów neuronalnych. Mimo tego, że już w roku 1880 Franz Nissl i Franz Robertson opisali drobne komórki glejowe podobne do makrofagów, to dopiero w roku 1920 Pio del Rio Hortega po raz pierwszy nazwał te komórki mikroglejem. Następny „krok milowy” w badaniach nad mikroglejem należał również do Hortegi, który badał i opisywał rolę odkrytego mikrogleju w patologii ośrodkowego układu nerwowego. Efektem jego pracy było również wprowadzenie do nomenklatury pojęcia oligodendrocyt w roku 1921.

Ponieważ do połowy XX wieku brak było odpowiednich narzędzi badawczych, dlatego rolę komórek glejowych do niedawna sprowadzano do funkcji określonych przez badaczy XIX wieku, czyli funkcji tkanki podporowej dla neuronów (Rudolf Virchow, Santiago Ramón y Cajal, Carl Weigert), tkanki

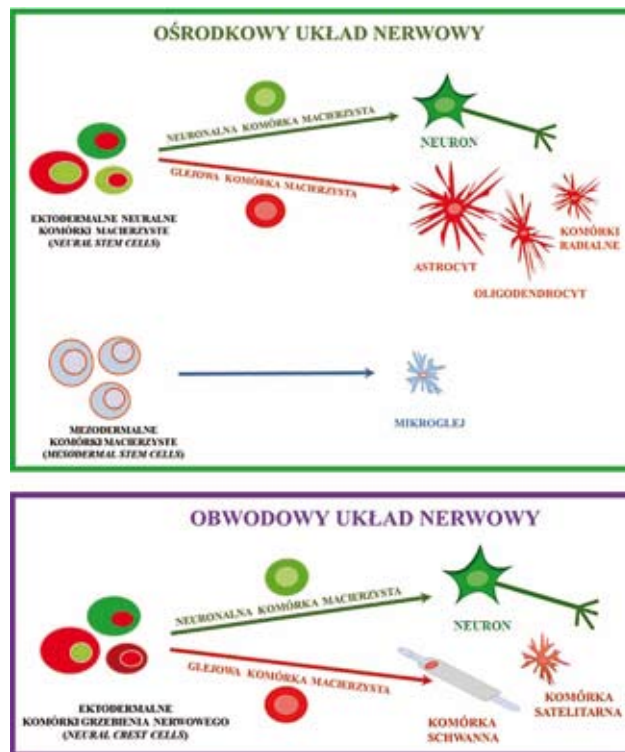
odżywczej, przekazującej substancje odżywcze z naczyń krwionośnych do neuronów (Camillo Golgi), tkanki izolacyjnej zapobiegającej niepożądanemu rozprzestrzenianiu się impulsów neuronalnych (Pedro Cajal) oraz tkanki oczyszczającej, której komórki dezaktywują i eliminują substancje „zużyte” w procesie komunikowania się neuronów (Camillo Golgi).

Na przełomie wieku zaczęły pojawiać się coraz to nowe techniki i technologie. Wielu badaczy zaczęło się z nimi zapoznawać, wykorzystując je w swoich projektach. Tak rozpoczęła się nowa era w badaniu fizjologii gleju, a w szczególności astrocytów, którą zapoczątkowały odkrycia lat 60. XX wieku, kiedy to Steven Kuffler, John Nicolls i Richard Orkand wykazali sprzężenie elektryczne pomiędzy astrocytami. W 1969 roku Milton Brightman i Tom Reese zidentyfikowali struktury, które dziś znamy jako złącza szczelinowe. Mimo to jeszcze przez następnych 20 lat postrzegano komórki glejowe jako bierne składowe sieci komórkowych, pełniące funkcje odżywcze, podporowe i izolujące. Opracowanie technik elektrofizjologicznych takich jak patch-clamp i zastosowanie znaczników fluorescencyjnych umożliwiających śledzenie zmian stężeń jonów wapnia, umożliwiły nowy typ badań i spowodowały radykalną zmianę naszego postrzegania gleju. Astrocyt przestał być komórką „niemą”. Rozpoczęto badania nad jego rolą zarówno w fizjologii jak i w patologii. Jednak dopiero od lat 90. XX wieku zmienia się postrzeganie roli komórek glejowych, glej przestał być już zwykłym „klejem”, a zaczęto przypisywać mu coraz to nowe funkcje. Obecnie wiadomo, że glej w znacznym stopniu odpowiada za prawidłowe funkcjonowanie i plastyczność mózgu. Komórki gleju są obecnie postrzegane jako regulatory funkcjonowania synaps, kontrolujące przepływ danych między neuronami i oddziałujące na przetwarzanie informacji, a także na procesy uczenia. Wiadomo już, że warunkiem prawidłowego działania sieci neuronalnych są komórki glejowe, a zaburzenia ich czynności prowadzą do dysfunkcji, a nawet śmierci neuronów. Odkrycie neuroprzebieżnictwa pozasynaptycznego i wykazanie, że klasycznemu złączu synaptycznemu często towarzyszą wypustki glejowe, które mogą odbierać sygnały przysynaptyczne i pozasynaptyczne, zwiększyło rozumienie udziału astrocytów w integrowaniu sygnałów i odpowiedzi neuronu na działanie neuroprzebieżników i neuromodulatorów. Okazało się, że astrocyty pełnią w mózgu wiele funkcji – metabolizują neuroprzebieżniki, usuwają toksyny, są źródłem energii dla neuronów i ogólnie rzecz biorąc – dbają o utrzymanie homeostazy układu nerwowego. Niewątpliwie przełomowym wydarzeniem było

odkrycie w 1984 roku przez Harolda Kimelberga i Helmuta Kettenmanna receptorów dla kwasu gammaaminomasłowego (GABA) oraz glutaminianu na oligodendrocytach i astrocytach. W 1990 roku Ann Cornell-Bell oraz Steve Finkbeiner wykazali, że astrocyty są pobudliwe i odpowiadają na stymulację wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia  $Ca^{2+}$ . Wkrótce po tym w 1991 roku Charles i współautorzy dowiedli, że stymulacja mechaniczna astrocytów w hodowli generuje powstawanie fali wapniowej, zjawiska polegającego na wzroście poziomu jonów wapnia w kolejnych komórkach należących do sieci połączonych ze sobą astrocytów. Jednakże dopiero badania wskazujące, że astrocyty mogą brać czynny udział w modulacji transmisji synaptycznej wzbudziły niezwykły wzrost zainteresowania tymi komórkami. Astrocyt przestał być tylko biernym regulatorem środowiska, a stał się istotnym graczem modulującym najistotniejsze procesy w ośrodkowym układzie nerwowym. Analiza ekspresji receptorów w astrocytach wykazała, że mogą one produkować właściwie wszystkie znane receptory oraz wykazują ekspresję licznych kanałów błonowych, a więc są wyposażone we właściwe narzędzia do wykrywania aktywności sąsiadujących neuronów. W latach 90. XX wieku i późniejszych wykazano, że przekąźnictwo pozasynaptyczne odgrywa zasadniczą rolę w utrzymującej się tonicznej regulacji aktywności neuronalnej i że jest m.in. podstawowym elementem oddziaływań neuroendokrynych i neuroimmunologicznych. Badania ostatnich lat – również nasze – podkreślają jednak, że to najmniejsze komórki glejowe czyli mikroglej są „kluczowymi graczami” w utrzymywaniu homeostazy. Wiadomo, że po uszkodzeniu tkanki nerwowej mikroglej ulega aktywacji i uruchamianych jest wiele procesów mających na celu z jednej strony ochronę przed czynnikami uszkodzającymi, a z drugiej naprawę powstałych zniszczeń tkanki. Mikroglej nie tylko stoi na straży komórek nerwowych, ale także odgrywa ważną rolę w pełnieniu przez nie podstawowych funkcji i jest niezmiernie istotny w wielu chorobach o podłożu zarówno neurodegeneracyjnym jak i autoimmunologicznym. Te drobne komórki glejowe pełnią bardzo różnorodne funkcje i są od niedawna przedmiotem bardzo intensywnych badań.

### Podział i rola poszczególnych komórek glejowych

Obecnie wśród komórek glejowych ośrodkowego układu nerwowego wyróżniamy wywodzące się z ektodermy (podobnie jak neurony) astrocyty, oligodendrocyty, komórki ependymy, komórki Bergmanna i Müllera oraz wywodzące się z mezodermy komórki mikrogleju (Ryc. 1).



Ryc. 1. Komórki glejowe dzielimy na wywodzące się z ektodermy (podobnie jak neurony) astrocyty, oligodendrocyty, komórki radialne, komórki Schwanna i satelitarne oraz wywodzące się z mezodermy komórki mikrogleju.

Największymi komórkami glejowymi są astrocyty (8–12  $\mu\text{m}$ ). Mają one liczne wypustki wchodzące w kontakt z ciałami komórkowymi i wypustkami neuronów, z naczyniami krwionośnymi kapilarnymi oraz pomiędzy sobą. Oligodendrocyty (glej skąpowypustkowy, 6–8  $\mu\text{m}$ ), mają nieliczne wypustki, które owijając się wokół aksonów tworzą osłonki mielinowe, towarzyszą też ciałom komórkowym neuronów (oligodendrocyty satelitarne). Komórki ependymy (glej wyściółkowy) w formie jednowarstwowego nabłonka wyściełają komory mózgu i kanał centralny rdzenia kręgowego. Komórki Müllera to rodzaj komórek glejowych występujący w siatkówce kręgowców, a komórki Bergmanna w mózdzku. Komórki mikrogleju są najmniejsze, mają nieliczne wypustki z kolcowatymi odgałęzieniami, mogą się poruszać, zmieniać kształt i fagocytować. W obwodowym układzie nerwowym glej występuje w postaci neurolemocytów (zwanymi także komórkami Schwanna) oraz komórek satelitarnych, które otaczają obecne w zwojach komórki nerwowe (Ryc. 1).

### Astrocyty

Najwcześniejsze badania na temat zaangażowania gleju w podstawowe funkcje układu nerwowego dotyczyły przede wszystkim astrocytów. Wiadomo, że te komórki tworzą sieć, a poprzez złącza szczelinowe



zachodzi wzajemna wymiana jonów i niskocząsteczkowych substancji aktywnych. Jest to proces bardzo dynamiczny, pozostający pod kontrolą neuroprzekazników i cytokin. Astrocyty charakteryzują się dużą odpornością na czynniki stresowe i zapalne, co czyni z nich doskonałych obrońców dla słabych i wrażliwych neuronów. Wydzielają substancje wzrostowe, takie jak nerwowy czynnik wzrostu (NGF), mózgowy czynnik wzrostu (BGF) czy zasadowy fibroblastyczny czynnik wzrostu (bFGF), które odgrywają istotną rolę w procesach naprawczych i wzrostowych neuronów. Astrocyty mają kanały jonowe otwierane m.in. za pośrednictwem glutaminianu, a pobudzenie tych kanałów wywołuje m.in. napływ  $Ca^{2+}$  do astrocytów i generowanie sygnału wapniowego w obrębie sieci tych komórek. Wiadomo, że astrocyty odgrywają bardzo ważną rolę zarówno w rozwoju, fizjologii jak i w patologii ośrodkowego układu nerwowego. Wyniki wielu badań wskazują na to, że zaburzenia funkcji astrocytów odgrywają rolę w patogenezie wielu chorób neurologicznych i psychicznych. W mózgach pacjentów cierpiących zarówno na depresję jednobiegunową jak i dwubiegunową, a także u osób ze schizofrenią oraz u samobójców obserwowano zmiany patologiczne i zanik astrocytów w korze. O uszkodzeniach astrocytów w depresji świadczy też wzrost zawartości białka S100B w surowicy pacjentów depresyjnych i maniakalnych, w porównaniu do ludzi zdrowych i wzrost ten koreluje pozytywnie z nasileniem objawów depresji, a także jest hamowany przez leki przeciwdepresyjne. Zaburzenie mechanizmów utrzymujących równowagę prooksydacyjno-antyoksydacyjną prowadzi do kumulacji toksycznych dla komórek nerwowych ilości wolnych rodników tlenowych (ROS), co poważnie zaburza ich prawidłowe funkcjonowanie, a nawet prowadzi do ich śmierci. Z tego względu komórki wykształciły wiele mechanizmów zabezpieczających przed szkodliwym działaniem ROS przez neutralizację bądź usuwanie ich z komórki i jej bliskiego otoczenia. Ponieważ komórki nerwowe cechuje bardzo ograniczony mechanizm samoobrony, główną linię obrony stanowią sąsiadujące z nimi astrocyty. Astrocyty wydzielają oraz magazynują związki o właściwościach antyoksydacyjnych, takie jak glutation czy askorbinian. Wiele toksycznych bodźców aktywuje astrocyty powodując zwiększoną proliferację i silną hipertrofię ciała komórki, jądra i wypustek. Aktywowane komórki produkują neuropeptydy, czynniki wzrostowe, cytokiny o różnorodnych właściwościach. Wiele czynników wydzielanych przez astrocyty ma działanie neuroprotektoryjne, na przykład po niedokrwieniu mózgu produkują czynnik wzrostu nerwów (NGF), czynnik

neurotroficzny pochodzenia mózgowego (BDNF), czynnik neurotroficzny pochodzenia glejowego (GDNF), czynnik wzrostu fibroblastów 2 (FGF2), erytropoetynę, inhibitor aktywatora plazminogenu oraz szereg innych białek. Odpowiedź astrogleju może być korzystna w uszkodzeniach układu nerwowego, jednakże rozległa glejoza może przynosić szkodę. Należy bowiem pamiętać, że astrocyty są również źródłem cytokin prozapalnych: IL-1beta, IL-6 oraz cytokin cytotoksycznych: FasL, TGF $\beta$ , TNF $\alpha$ . Wydaje się, że zarówno nadmierna aktywacja astrocytów, jak i glejoza powodują opóźnienie lub nawet uniemożliwiają regenerację.

Po raz pierwszy w roku 1991 Garrison i współpracownicy zaobserwowali wzrost aktywacji astrocytów w ośrodkowym układzie nerwowym po uszkodzeniu nerwów obwodowych. Autorzy wykazali, że w trakcie rozwoju neuropatii astrocyty ulegają strukturalnym i funkcjonalnym modyfikacjom. Te komórki przełączają się ze swego spoczynkowego fenotypu w fenotyp aktywny, w wyniku czego dochodzi do systematycznego uwalniania przez nie cytokin (m. in. TNF $\alpha$  i IL-1beta), tlenku azotu, prostaglandyn, aminokwasów pobudzających i ATP, które obniżają poziom aktywacji lub bezpośrednio pobudzają neurony. Aktywacja rdzeniowych astrocytów została również zaobserwowana w modelach bólu wywołanego zapaleniem indukowanym iniekcją m. in. formaliny lub zymozanu. Grupa Coyle w roku 1998 wykazała, że nawet po trzech miesiącach od obwodowego uszkodzenia nerwu kulszowego wciąż obserwowane są aktywne astrocyty na poziomie rdzenia kręgowego i dlatego autorzy wyrażają pogląd, że te komórki odpowiadają za utrzymywanie się nadwrażliwości nocycyptywnej. Wnioski te są sprzeczne z badaniami przeprowadzonymi przez Deumens i współpracowników w 2009 roku, w których autorzy wykazali, że liczba zaktywowanych astrocytów po trzech miesiącach od urazu, jest odwrotnie skorelowana z nadwrażliwością nocycyptywną. Może być to powodowane zmianą fenotypu „pronocycyptywnego” zaktywowanych w przebiegu bólu przewlekłego astrocytów na „antynocycyptywny”. Choć brak na to wystarczających dowodów, to jednakże protekcyjna rola astrocytów może być związana z kontrolowaniem poziomu glutaminianu w synapsie. Z perspektywy terapeutycznej istnieją ograniczenia w dostępności czynników farmakologicznych działających na aktywację astrocytów, a główny inhibitor gleju, fluorocytrynian zmniejsza (jeśli w ogóle) ból neuropatyczny tylko w niewielkim stopniu, co sugeruje dualistyczną rolę tych komórek.

## Oligodendrocyty i komórki Schwanna

Szybkość i skuteczność przewodzenia impulsów nerwowych w obrębie układu nerwowego opiera się na obecności osłonki mielinowej, struktury wytwarzanej przez specjalistyczne komórki glejowe, których wypustki tworzą spiralę błonową wokół aksonów wielu neuronów. W ośrodkowym układzie nerwowym osłonka mielinowa jest utworzona poprzez nawijanie się na akson wypustek cytoplazmatycznych komórek oligodendrocytów. Komórki te zawdzięczają swoją nazwę mniej licznym niż w przypadku astrocytów wypustkom oraz mniejszym rozmiarom, stąd nazwa glej skąpowypustkowy. Komórki te występują zarówno w szarej jak i białej istocie mózgowia, a jeden oligodendrocyt może wytworzyć osłonkę na kilku wypustkach neuronów. W obwodowym układzie nerwowym podobną funkcję pełnią komórki neurogleju wywodzące się z grzebienia nerwowego, czyli neurolemocyty, zwane także komórkami Schwanna lub lemocytami. Jednak w tym przypadku jeden lemocyt wytwarza osłonkę mielinową tylko na jednej wypustce nerwowej. Mielina, błona lipidowa otaczająca aksony komórek nerwowych, jest niezbędna dla szybkiego i efektywnego przewodnictwa sygnałów nerwowych. Wytwarzanie osłonki mielinowej owijającej akson doprowadza do bezpośredniego połączenia procesu dojrzewania oligodendrocytu i samego aksonu. W przypadku uszkodzenia włókien nerwowych to właśnie komórki Schwanna są pobudzone i biorą istotny udział w procesach regeneracji nerwów. Dochodzi do przywrócenia ich zdolności proliferacyjnych, jak i migracji oraz wydzielania licznych czynników przyczyniających się do regeneracji nerwów. Dlatego też w pierwszych 24 godzinach od powstałego uszkodzenia, jeszcze przed napływem makrofagów z krwi, komórki Schwanna kontrolują prowadzącą do demielinizacji degradację podstawowego białka budującego mielinę. Znaczenie osłonki mielinowej dla funkcjonowania układu nerwowego staje się jasne, kiedy przyjrzymy się skutkom utraty jej integralności w przebiegu takich chorób jak stwardnienie rozsiane lub dziedziczne leukodystrofie.

## Komórki satelitarne

Komórki satelitarne to komórki glejowe zlokalizowane w obwodowym układzie nerwowym, gdzie osłaniają ciała neuronów zgromadzone w zwojach nerwowych. Wspomagają one również transdukcję sygnału oraz nocycepcję poprzez utrzymanie zarówno metabolicznej, jak i jonowej homeostazy. W modelach bólu neuropatycznego oraz zapaleniach

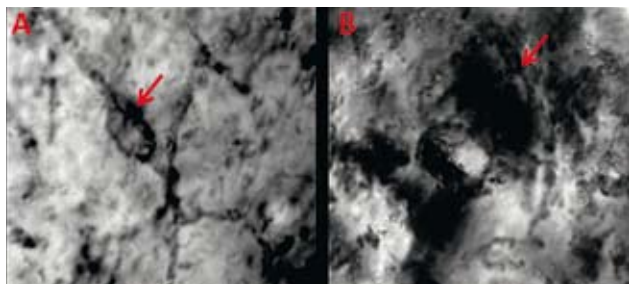
obwodowych dochodzi do aktywacji oraz proliferacji komórek satelitarnych, czego skutkiem jest wzrost poziomu ekspresji filamentów pośrednich, kwaśnego białka włókienkowego (GFAP) i uwalnianie prozapalnych cytokin, takich jak TNF $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . Dane literaturowe donoszą, że czynniki uwalniane przez komórki satelitarne w zwojach korzeni grzbietowych odpowiadają za stymulację ośrodkowych zakończeń nerwowych w rogach grzbietowych rdzenia kręgowego, co odgrywa znaczącą rolę w procesach nocycepcji. Ból pojawiający się w wielu chorobach o podłożu neurodegeneracyjnym i autoimmunologicznym może być spowodowany zmianami w ilości potasu i glutaminy, za których buforowanie odpowiedzialne są komórki satelitarne.

## Mikroglej

Komórki mikrogleju wywodzą się z monocytów i są makrofagami ośrodkowego układu nerwowego. Ważnym zadaniem tych drobnych komórek glejowych jest obrona organizmu przed patogenami. Reagują one na stres, uszkodzenie i wszelkie zaburzenia w ośrodkowym układzie nerwowym oraz biorą udział w usuwaniu transformowanych nowotworowo komórek własnych. Aktywacja mikrogleju skutkuje zmianą cech morfologicznych komórek (z wysoce rozgałęzionego stanu do ostatecznej postaci fagocytującego makrofaga), proliferacją, zmianą ekspresji receptorów oraz zmianą ich funkcji (migracja do miejsca uszkodzenia, fagocytoza, uwalnianie mediatorów prozapalnych). Sygnał zapoczątkowujący aktywację mikrogleju nie jest jasno określony i wymaga dalszych wnikliwych badań. Wydaje się, że głównym bodźcem może być depolaryzacja neuronów następująca w wyniku ich uszkodzenia. Natomiast inne badania wskazują na istotny udział w aktywacji mikrogleju cząsteczek sygnałowych pochodzenia neuronalnego, takich jak: cytokiny prozapalne, czynniki wzrostu, białka dopełniacza, wolne rodniki, neurotoksyny, tlenek azotu, prostaglandyny, ATP oraz aminokwasy pobudzające. Komórki mikrogleju zapewniają utrzymanie homeostazy, nadzorują przeżywalność neuronów w obrębie ośrodkowego układu nerwowego oraz pełnią rolę komórek immunologicznie kompetentnych. Aktywowane komórki mikroglejowe są ponadto zdolne do wydzielania wielu czynników wzrostowych i zapalnych. Warto podkreślić, że zaktywowany mikroglej wydzielają różnorodne substancje, takie jak: cytokiny, czynniki wzrostu, enzymy, białka dopełniacza, neurotoksyny, wolne rodniki, tlenek azotu, które mogą na drodze autokrynnej pobudzać te komórki na zasadzie sprzężenia zwrotnego oraz aktywować astrocyty i neurony,

które stają się źródłem kolejnych cytokin o potencjalnie neurotoksycznym działaniu. Uszkodzenie bądź stymulacja immunologiczna powoduje szybką aktywację komórek mikrogleju. Wiele badań zgodnie podkreśla, że niekontrolowana aktywacja mikrogleju może prowadzić wtórnie do niszczenia komórek nerwowych oraz do uszkodzenia bariery krew-mózg, warunkującej integralność ośrodkowego układu nerwowego, co w konsekwencji może być przyczyną rozległej degeneracji struktury mózgu oraz poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu całego organizmu.

Akumulację komórek mikrogleju zaobserwowano w wielu stanach patologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym, takich jak: choroba Parkinsona, choroba Alzheimerera, stwardnienie rozsiane, neuropatia, niedokrwienie mózgu, a także w zakażeniach bakteryjnych i wirusowych. W chorobie Alzheimerera występowanie złożeń  $\beta$  amyloidu korelowało z nagromadzeniem się wokół nich komórek mikrogleju/makrofagów. Znaczna liczba komórek rozpoznawanych jako aktywowany mikroglej pochodzi najprawdopodobniej z napływających do mózgu komórek pochodzących ze szpiku kostnego. Wiadomo obecnie również, że mikroglej bardzo dynamicznie moduluje funkcje neuronalne w bólu neuropatycznym, który występuje w cukrzycy, udarze, stwardnieniu rozsianym, fibromialgii oraz po urazach rdzenia kręgowego i nerwów obwodowych.



Ryc. 2. A – Komórka mikrogleju w stanie spoczynku, natomiast B – w stanie pobudzenia na poziomie rdzenia kręgowego po uszkodzeniu nerwów obwodowych (zdjęcie z badań własnych).

W przypadku rozwoju neurodegeneracji na poziomie rdzenia kręgowego to właśnie komórki mikrogleju są aktywowane jako pierwsze z komórek glejowych i pozostają aktywne przez kilka tygodni. Dzieje się tak na przykład, co wykazały badania mojego zespołu, po uszkodzeniu nerwów obwodowych (Ryc. 2). Mikroglej ulega szczególnie silnym zmianom morfologicznym i proliferacji, pojawiają się nowe markery powierzchniowe, następuje migracja do miejsca uszkodzenia, fagocytoza oraz produkcja i uwalnianie licznych substancji prozapalnych. Zaktywowane komórki mikrogleju zaczynają produkować również wiele związków prozapalnych takich

jak cytokiny: IL-1beta, TNFalfa, IL-6, chemokiny (fraktalkina, białko zapalne makrofagów – 1alfa i beta) i związki cytotoksyczne (indukowalna syntaza tlenu azotu – iNOS, wolne rodniki tlenowe i azotowe). Ponadto dochodzi do indukcji ekspresji wielu receptorów powierzchniowych, które przyspieszają odpowiedź immunologiczną. Wśród nich są receptory dla układu dopełniacza (CR1, CR3, CR4), cytokin (tumor necrosis factor receptor I, II - TNFRI, TNFRII) oraz chemokin (CX3CR1). Wiadomo już, że dużą rolę w nocycepcji odgrywa produkcja prozapalnych cytokin takich jak TNFalfa, IL-1beta, IL-6, które są mediatorami procesów bólowych takich jak alodynia i hiperalgezia. Kombinacja dostarczonych przez komórki mikrogleju mediatorów przyczynia się do powstania prozapalnego środowiska w pierwszej bólowej synapsie w rdzeniu kręgowym, co następnie rozprzestrzenia się do odległych części, czego skutkiem jest rozwój hipersensytyzacji oraz długo utrzymujący się ból.

Liczne badania przedstawiają mikroglej jako potencjalnie niebezpieczne komórki efektorowe układu immunologicznego, jednakże pojawiające się publikacje wskazują zarówno na neuroprotektoryjne jak i neurotoksyczne działanie pobudzonego mikrogleju. Taką możliwość wyjaśniają ostatnie badania, które jednoznacznie wskazują, że aktywacja mikrogleju jest procesem bardzo złożonym. Może dojść do aktywacji, w wyniku której rozpocznie się kierunek zmian o potencjale neurotoksycznym M1 czyli „klasyczna aktywacja” lub o potencjale neuroprotektoryjnym M2 czyli „aktywacja alternatywna”. Głównym celem obecnie prowadzonych badań nad mikroglejem jest poszukiwanie czynników wpływających na przełączanie fenotypu mikrogleju w zależności od stanu aktywacji – z M1 na M2 lub z M2 na M1, co według obecnej wiedzy mogłoby umożliwić regulację wielu mechanizmów i procesów patologicznych tocących się w organizmach żywych. Dalsze badania być może pozwolą uściślić sposoby aktywacji i modulacji różnorodnych funkcji tych komórek oraz uzupełnią obecne dane dotyczące mikrogleju. Badania histopatologiczne mikrogleju z mózgow ludzkich od zdrowych starszych ludzi, jak również od tych z chorobą Alzheimerera, dostarczyły dowodów, że same komórki mikrogleju również podlegają zmianom degeneracyjnym. Pojawiają się nieprawidłowości morfologiczne obejmujące utratę rozgałęzień, bulwiaste obrzęki i fragmentacje procesów cytoplazmatycznych. Wysłunięto hipotezę, że dysfunkcja mikrogleju przyczynia się do rozwoju chorób neurodegeneracyjnych z powodu utraty istotnej neuroprotektoryjnej roli tych komórek.



Podsumowując, mikroglej pełni ważną rolę w utrzymywaniu homeostazy w ośrodkowym układzie nerwowym, wpływa na prawidłowy jego rozwój i różnicowanie, wydziela czynniki neuroprotektoryjne, moduluje plastyczność neuronalną. W stanach patologicznych o różnej etiologii aktywny mikroglej przechodzi w fazę M1 i w sposób niekontrolowany produkuje cytokiny prozapalne i toksyczne oraz liczne mediatory stanu zapalnego, które indukują śmierć kolejnych komórek, w tym neuronalnych, pogłębiając uszkodzenie w ośrodkowym układzie nerwowym. Jednakże całkowita eliminacja mikrogleju ma działanie niekorzystne, gdyż pewne jego funkcje są niezbędne dla procesów protekcyjnych i naprawczych.

### Farmakologiczne zahamowanie aktywacji gleju

Farmakologiczne zahamowanie aktywacji gleju zostało ostatnio zaproponowane jako nowy sposób kontrolowania zmian neurodegeneracyjnych. Podawanie substancji neutralizujących wolne rodniki takich jak: witamina E, melatonina, estrogeny, polifenole, ma właściwości neuroprotektoryjne. W licznych badaniach wykazano, że blokowanie wydzielania lub działania prozapalnych czynników takich jak IL-1beta i TNFalfa, za pomocą przeciwciał neutralizujących cytokiny lub rozpuszczalnych receptorów cytokin, powoduje zmniejszenie rozmiarów uszkodzenia tkanki nerwowej. Badania ostatnich lat wykazały, że inhibitory gleju takie jak propentofilina, pentoksyfilina, fluorocytrynian i minocyklina hamują wydzielanie licznych cytokin poprzez zmniejszanie aktywacji mikrogleju i w ten sposób hamują rozwój chorób neurodegeneracyjnych (Alzheimera, Parkinsona) oraz bólu neuropatycznego. Zarówno propentofilina jak i pentoksyfilina, hamując wydzielanie z komórek mikrogleju i komórek immunologicznych licznych cytokin takich jak TNFalfa, IL-1beta, IL-6 i IL-8, powodują osłabienie rozwoju bólu, co potwierdzają liczne badania przeprowadzone zarówno w modelach zwierzęcych jak i w klinice. Inną, obiecującą substancją jest minocyklina, silny inhibitor aktywacji i proliferacji mikrogleju oraz inhibitor metaloproteinaz. Dane kliniczne wykazują, że minocyklina dobrze przechodzi przez barierę krew-mózg oraz wykazuje właściwości neuroprotektoryjne w chorobach neurodegeneracyjnych związanych z aktywacją mikrogleju. Minocyklina hamując zaktywowane komórki mikrogleju, redukuje poziom prozapalnych czynników takich jak IL-1beta, IL-6, TNFalfa, iNOS, cyklooksygenazy-2 (COX-2). Badania eksperymentalne ostatnich lat – również wykonywane w zespole prowadzonym przeze mnie – wykazały, że zarówno obwodowe jak

i nardzeniowe podania minocykliny obniżają rozwój takich symptomów bólu neuropatycznego jak alodynia i hiperalgezia.

W wielu chorobach o podłożu neurodegeneracyjnym rozwija się ból. Dokładny mechanizm tego procesu nie jest poznany, ale liczne badania wskazują, że jedną z przyczyn może być niekontrolowana aktywacja komórek glejowych następująca w wyniku rozwijania się patologii, co prowadzi do zmian aktywności endogennych systemów. Zmiany te prowadzą do redukcji przeciwbólowych właściwości morfiny oraz do spadku liczby presynaptycznych receptorów opioidowych. Kilka lat temu pojawiła się hipoteza, że zahamowanie aktywacji gleju może poprawić efektywność leków przeciwbólowych. Nasze badania prowadzone na myszach i szczurach w modelu bólu neuropatycznego, udowodniły większy udział komórek mikrogleju niż astrogleju w rozwoju tolerancji morfinowej w bólu neuropatycznym. Badania biochemiczne potwierdziły, że minocyklina i pentoksyfilina (inhibitor cytokin) opóźniają rozwój tolerancji morfinowej, obniżając stopień aktywacji mikrogleju na poziomie rdzenia kręgowego. Badania kliniczne – także nasze – potwierdziły, że pentoksyfilina również łagodzi ból kooperacyjny u pacjentów oraz podnosi efektywność morfiny. Badania prowadzone na zwierzętach przez grupę Ledeboer w 2006 roku sugerowały, że ibudilast, hamując aktywację komórek mikrogleju podnosi efektywność morfiny w bólu neuropatycznym. Potwierdzają to badania przedkliniczne prowadzone w Australii, z których wynika, że ibudilast może być stosowany doustnie, ponieważ przechodzi przez barierę krew-mózg, ponadto jest dobrze tolerowany, redukuje aktywację gleju, obniża symptomy bólu neuropatycznego i nasila analgezję morfinową. Dotychczasowe liczne badania sugerują, że zahamowanie aktywacji mikrogleju może istotnie wpłynąć na wzrost efektywności leków przeciwbólowych stosowanych w klinice. Wiele danych wskazuje, że farmakologiczne blokowanie aktywacji mikrogleju zmienia poziom ekspresji prozapalnych czynników, a co za tym idzie, charakter odpowiedzi komórek glejowych w obszarze uszkodzenia. Lepsze poznanie funkcji i mechanizmów molekularnych aktywacji mikrogleju, może umożliwić skuteczne przełączanie jego funkcji w zależności od pożądanego efektu. Patologie, które przebiegają na ogół z szybkim namnażaniem się komórek mikrogleju oraz hipertrofią astrocytów, bardzo zmieniają środowisko neuronu i upośledzają prawidłowy przekaz sygnałów oraz tworzą barierę przestrzenną utrudniającą regenerację aksonów.

## Wnioski

Odpowiedź na pytanie czy glej jest naszym wrogiem czy przyjacielem jest bardzo trudne przy obecnym stanie wiedzy. Dostępne na ten temat badania składają jednak do wysunięcia hipotezy, że jego aktywacja utrzymana w rozsądnych granicach jest korzystna dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego, czyli że glej to nasz przyjaciel. Niewątpliwie jednak zmiany degeneracyjne gleju, jak i jego niekontrolowana aktywacja przyczyniają się do rozwoju rozmaitych patologii w ośrodkowym i obwodowym

układzie nerwowym z powodu utraty neuroprotekcyjnych funkcji tych komórek, co podkreśla ich niezmiernie istotną rolę w utrzymaniu homeostazy. Badając współdziałanie neuronów i komórek glejowych, neurofarmakolodzy mają nadzieję na zbliżenie się do pełnego rozumienia działania układu nerwowego w normie i patologii, a co za tym idzie skuteczniejszą farmakoterapię wielu chorób w przyszłości.

*Praca powstała w ramach grantu  
2011/03/B/NZ4/00042*

Dr hab. n. med. Joanna Mika. Zakład Farmakologii Bólu, Instytut Farmakologii Polskiej Akademii Nauk.  
E-mail: joamika@if-pan.krakow.pl

# LECZNICZE ZASTOSOWANIA MARIHUANY

*Jerzy Vetulani (Kraków)*



Preparaty z konopi, takie jak marihuana, haszysz i daga, były używane w medycynie od tysiącleci. Od połowy XIX wieku, kiedy postępy chemii umożliwiły badania nad aktywnymi biologicznie składnikami wielu roślin, przebadano również konopie.



Ryc. 1. Raphael Mechoulam. Odkrywca THC, aktywnego psychotropowo składnika konopii.

Jednakże izolacja terpenoidów, do których należą alkaloidy konopi, okazała się trudna. Chociaż aktywny biologicznie wyciąg z konopi uzyskał już w 1840 roku niemiecki chemik S. Schlesinger, opisując go w *Repertorium fur die Pharmazie*, a osiem lat później we Francji E. Decourtive w pracy *Note sur le haschisch* otrzymał z ekstraktu alkoholowego liści konopi żywicowaty produkt, który nazwał „cannabin”, to aktywny psychotropowo składnik konopi,

(-)-trans- $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol THC, został wyizolowany w czystej postaci dopiero 124 lata później, przez grupę uczonych z Hebrajskiego Uniwersytetu w Jerozolimie, kierowaną przez Raphaela Mechoulama i Yechiela Gaoniego. Konopie były używane w celach medycznych od czasów neolitycznych, a jak wskazują ślady archeologiczne, na pewno zna-



Ryc. 2. Liście konopii.

ne były w starożytnych Chinach, Indiach, Mezopotamii i wybrzeżach Morza Śródziemnego i Czarnego. Z okresu V–II w. p.n.e. pochodzą naczynia do palenia konopi znalezione w kurhanach władców scytyjskich w Pazyryku, w górach Ałtaju. Konopie były później używane intensywnie zwłaszcza w kręgu kultury islamskiej, w której obowiązywał zakaz użycia alkoholu. Używanie konopi, najczęściej w formie palonego i wdychanego ziela, rozpowszechniło się dlatego, że poza działaniem leczniczym wpływało też pozytywnie na nastrój, zazwyczaj powodując wesołość, oraz w atrakcyjny zazwyczaj sposób zmieniało percepcję świata. Stąd w XIX wieku haszysz, na równi z alkoholem, budził żywe zainteresowanie, szczególnie wśród francuskich romantyków. Theophile Gautier