

Jak widać, od czasów Paracelsusa poszukiwanie nowych leków zostało w dużym stopniu usystematyzowane i coraz częściej posiada znamiona algorytmu, a nie szczęśliwego trafu. Należy jednak mieć na uwadze, że obecnie związki przechodzą przez bardzo gęste sito wstępnych testów. Jest to spowodowane bardzo dużymi wymaganiami rynkowymi – do sprzedaży dostać się mogą tylko preparaty uznane za bardzo bezpieczne. Wart przytoczenia jest eksperyment myślowy – gdyby aspiryna została wynaleziona obecnie, a nie w 1897 r., to nie miałyby najmniejszych

szans trafić do aptek, ponieważ posiada zbyt wiele efektów ubocznych. Nie da się jednak zanegować faktu, że używanie aspiryny wydatnie przedłuża czas i poprawia jakość życia ludzi. Jest wielce prawdopodobne, że ze względu na rygor i schemat wykonywanych testów, w przyszłości rzadziej będą odkrywane leki, które uznane zostaną za rewolucyjne – jak to miało miejsce w przypadku opisanej wcześniej aspiryny. Jest to jednak koszt dużego progu bezpieczeństwa ustanowionego dla związków podawanych ludziom.

Adam Hogendorf, Instytut Farmakologii PAN, Kraków. Zakład Chemii Leków. E-mail: ahogendorf@gmail.com

## ASTROCYTY A DEPRESJA

*Maria Śmiałowska, Helena Domin (Kraków)*

Choroby afektywne, a wśród nich depresja, stanowią ogromny i narastający problemem dotyczący ponad 120 milionów ludzi w Europie i Stanach Zjednoczonych. Psychiatrzy i neurologi, tacy między innymi jak Kessler i współpracownicy, Menard i współpracownicy, w badaniach z lat 90. XX w. i początków XXI wieku podają, iż depresja dotyka blisko 1/5 populacji ludzi. Wciąż jednak mechanizmy związane z patogenezą depresji nie są w pełni poznane, a leczenie jest nieskuteczne u około 30% pacjentów. Wysuwano różne hipotezy dotyczące przyczyn choroby depresyjnej (MD, ang. *Major depression*) wśród nich chroniczny stres, uszkodzenia neurogenezy i neuroplastyczności, dysfunkcja systemów monoaminergicznych (monoaminy to neuroprzekaźniki takie jak noradrenalina, dopamina i serotonina) i czynniki genetyczne. Wśród tych hipotez dominującą rolę odgrywa hipoteza monoaminergiczna, a leki przeciwdepresyjne stosowane obecnie ingerują właśnie w przekazywanie monoaminergiczne, poprawiając przeważnie przekazywanie serotonergiczne.

Ponieważ efekty terapeutyczne tych leków pojawiają się dopiero po kilku tygodniach podawania, dlatego uważa się, że w leczeniu MD istotne są, zachodzące przy takiej chronicznej terapii, efekty adaptacyjne.

Badania ostatnich kilkunastu lat wskazują na ważną rolę zaburzenia w mózgu równowagi dwóch podstawowych neuroprzekaźników – pobudzającego kwasu glutaminowego (glutaminian) (Glu) i hamującego kwasu gamma-aminomasłowego (GABA)

w patogenezie depresji, przy czym w depresji wykazywano nadczynność Glu. Właśnie ta koncepcja hiperaktywacji Glu wiąże się z poruszaną w niniejszym artykule rolą astrocytów w depresji, gdyż astrocyty odgrywają istotną rolę w regulacji równowagi Glu/GABA, wychwytyjąc Glu uwolniony do przestrzeni międzykomórkowych.

W naszym artykule opublikowanym w poprzednim numerze *Wszechświata*, zatytułowanym „Astrocyty a intelekt” (Tom 116, nr 7–9, str. 204–209) przedstawiliśmy rolę astrocytów w modelu synapsy trójdzielnej, zwłaszcza w regulacji przekazywania Glu. Opisałyśmy też typy komórek glejowych w mózgu ssaków, ze szczególnym uwzględnieniem budowy i funkcji astrocytów (jednego z typów komórek glejowych). Zwróciłyśmy uwagę na fakt, że astrocyty naczelnych, a zwłaszcza człowieka, tworzą więcej zróżnicowanych typów komórek, a ich domeny obejmują większe obszary i regulują więcej synaps niż astrocyty gryzoni. Obecny artykuł poświęcony będzie roli astrocytów w depresji.

### **Zaburzenia funkcji gleju, zwłaszcza astrocytów w patogenezie chorób afektywnych**

Na istotną rolę komórek glejowych, zwłaszcza astrocytów, w depresji wskazują wyniki pośmiertnych badań mózgow ludzi chorych na MD. Okazało się bowiem, iż patologia gleju jest w tej chorobie stale powtarzającym się zjawiskiem (Tab. 1). Sześć lat badań anatomicznych i morfometrycznych wielu

struktur wykazały w depresji jednobiegunowej a także u samobójców, spadek gęstości kom. glejowych – astrocytów i oligodendrocytów – w korze przedczołowej i strukturach limbicznych. Obserwowano również wzrost gęstości mikrogleju i zmiany morfologii i gęstości neuronów.

## Rola sieci astrocytarnych w równowadze metabolicznej mózgu

Jak zostało to już opisane w poprzednim artykule, astrocyty tworzą sieci kontrolujące synapsy, aktywność neuronalną i kontakty z naczyniami krwionośnymi w rozległych obszarach mózgu. W takich syn-

Tab. 1. Wyniki badań pośmiertnych z mózgów pacjentów depresyjnych.

Objaśnienia: **GFAP** – Kwaśne białko włóknikowe glejowe (ang. *Glial fibrillary acidic protein*), charakterystyczne dla astrocytów. **Akwaporyna 4** – białko błonowe tworzące kanały uczestniczące w transporcie wody; w ośrodkowym układzie nerwowym w astrocytach (zwłaszcza w stopkach na naczyniach krwionośnych) i w komórkach wyściółki. **Koneksyna** – białko błonowe tworzące specjalne kanały (koneksyny) łączące przylegające do siebie komórki. W mózgu związane są z komunikacją między astrocytami w połączeniach szczelinowych oraz między astrocytami a oligodendrocytami.

Patologia	Autorzy
Różnego typu patologie gleju u pacjentów psychiatrycznych. Zmniejszenie ilości gleju, astrocytów i stosunku glej/neurony w mózdzku.	Bowley i wsp. 2001; Cotter i wsp. 2001, 2002; Fatemi i wsp. 2004; Sanacora i Banasr 2013;
Zmniejszenie liczby astrocytów i poziomu GFAP w ciele migdałowatym i korze przedczołowej.	Ongur i wsp. 1998; Bowley i wsp. 2002; Altshuller i wsp. 2010;
Patologia i zanik komórek glejowych w korze i deficyt ich funkcji.	Torres-Platas i wsp. 2011
Zmniejszenie gęstości astrocytów i GABA-ergicznym interneuronów w korze przedczołowej i obniżenie ekspresji GFAP.	Rajkowska i wsp. 1999, 2007, 2013; Miguel-Hidalgo 2000, 2004; Miguel-Hidalgo i wsp. 2010; Oh i wsp. 2011; Sanacora i Banasr 2013
Spadek gęstości kom. glejowych: astrocytów i oligodendrocytów w korze przedczołowej i strukturach limbicznych; wzrost gęstości mikrogleju; zmiany morfologii i gęstości neuronów.	Chercher i wsp. 2009
Obniżona ekspresja i zawartość transporterów Glu, specyficznych dla astrocytów (EAAT1, EAAT2), w korze przedczołowej i cingularnej.	Choudary i wsp. 2005; Miguel-Hidalgo i wsp. 2010; Bernard i wsp. 2011
Obniżenie ekspresji genów SLC1A3 (koduje EAAT1) i SLC1A2 (koduje EAAT2) w astrocytach, ale nie w oligodendrocytach w miejscu sinawym.	Bernard i wsp. 2011; Chandley i wsp. 2012
Obniżenie ekspresji białek astrocytarnych, takich jak akwaporyna 4 i koneksyna w mózgzach MD i u samobójców.	Ernst i wsp. 2011; Edgar i Sibille 2012; Rajkowska i Stockmeier 2013

Również badania surowicy krwi pacjentów depresyjnych wskazują na uszkodzenie astrocytów mózgowych, wzrasta bowiem w surowicy stężenie białka S100b. Jest to również białko charakterystyczne dla astrocytów, uwalniane przy ich uszkodzeniu. Wzrost zawartości S100b w surowicy jest markerem uszkodzeń astrocytów. Co ciekawe, poziom tego białka w surowicy koreluje z nasileniem objawów depresji i jest obniżany przez leki przeciwdepresyjne.

cytach astrocytarnych przenoszone są fale wapniowe i pobudzenia. Austrijski neuropsychiatra Mitterauer przedstawił w latach 2010–2011 hipotezę, że głównym komponentem w patofizjologii depresji jest uszkodzenie astrocytarnego syncytium, wynikające z obniżenia ekspresji białka koneksyny w połączeniach szczelinowych (ang. *gap junctions*) astrocytów. Wywołuje to kompensacyjną nadprodukcję receptorów astrocytarnych i gliotransmitterów, co prowadzi do przedłużenia ich hamującego, zwrotnego działania. Autor sugeruje, że byłoby to związane z zaburzeniami pamięci, koncentracji, zaburzeniami snu i osłabieniem ruchowym w depresji.

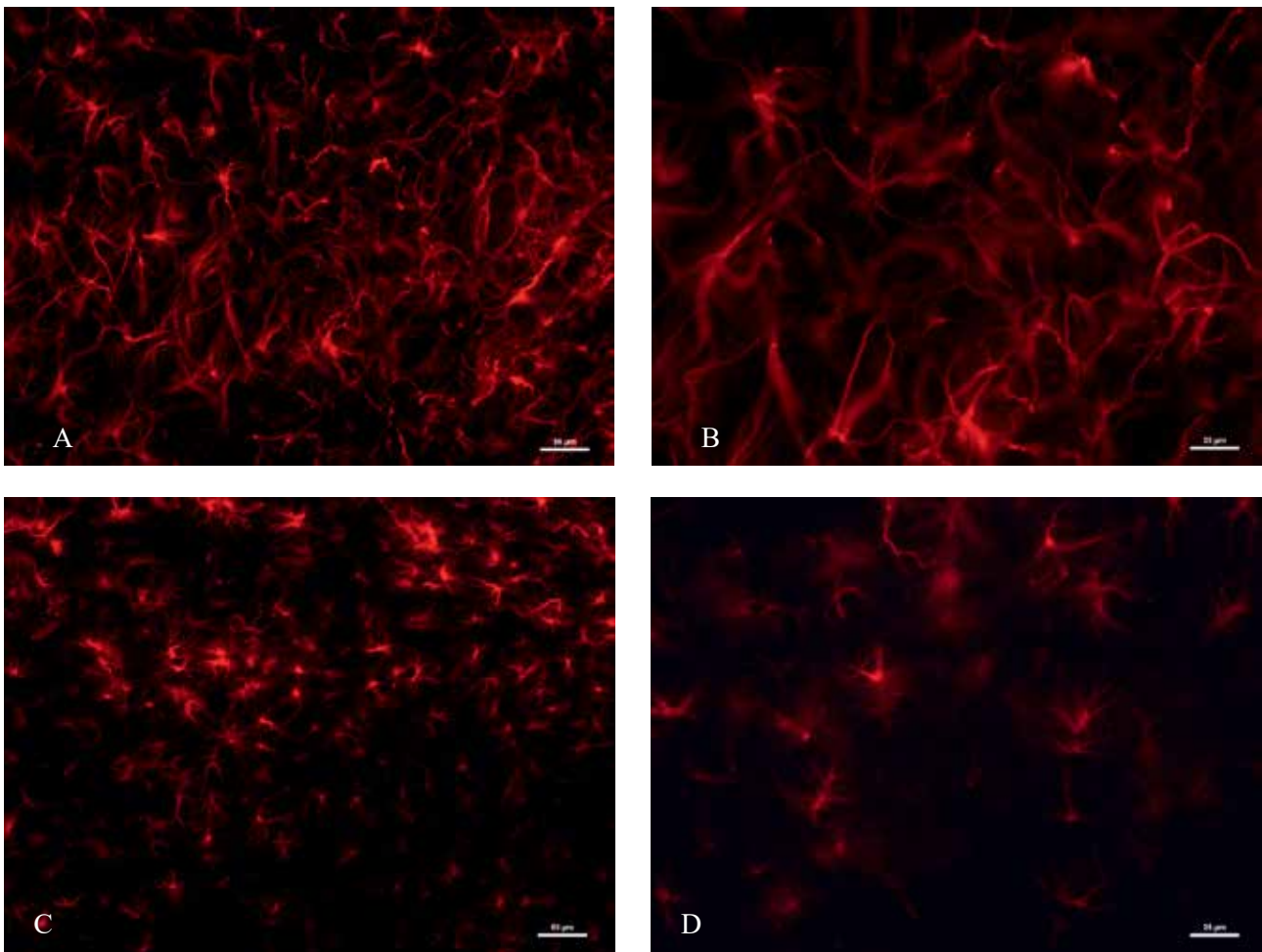
### Uszkodzenia glejowe w zwierzęcych modelach depresji

Za rolą astrocytów w patogenezie depresji przemawiają również wyniki uzyskane przez licznych badaczy w latach 2006–2015 na zwierzęcych modelach depresji, takich jak stres chroniczny, stres psychosocjalny czy model odstawienia od matki. Obserwowano u tych zwierząt spadek zawartości GFAP, zmniejszenie ilości i wielkości astrocytów w strukturach limbicznych, głównie w korze przedczołowej i hipokampie, a więc w tych samych okolicach mózgu, które były uszkodzane u pacjentów z MD.

Jak wspomniano powyżej, astrocyty pełnią istotną rolę w utrzymaniu równowagi Glu/GABA, wychwytyjąc glutaminian uwolniony do przestrzeni

u szczurów, wywołanej chronicznym stresem po podaniach kortykosteronu, obniżenie w hipokampie ekspresji i aktywności GLT1, transportera glutaminianu specyficznego dla astrocytów. To obniżenie GLT1 powoduje, że glutaminian nie może być skutecznie wychwycony z przestrzeni pozakomórkowych, co skutkuje nadczynnością Glu. Również inni badacze wykazywali zmniejszenie ekspresji transporterów Glu w korze cingularnej w modelu wyuczonej bezradności u szczurów, która jest jednym z modeli depresji.

Po chronicznym nieprzewidywalnym stresie, który jest ogólnie uznanym modelem depresji u gryzoni, stwierdzono uszkodzenia połączeń szczelinowych astrocytów w korze przedczołowej u szczurów i ob-



Ryc. 1. Skrawki z kory przedczołowej mózgu szczura barwione przeciwciałem do GFAP, które jest białkiem charakterystycznym dla astrocytów. Barwienie immunohistofluorescencyjne z użyciem wtórnego przeciwciała Alexa fluor 555. Komórki fluoryzujące na czerwono to GFAP immunoreaktywne astrocyty. (A) Szczur kontrolny; widoczne liczne astrocyty z wypustkami; powiększenie obiektywowe 20x. (B) Ten sam skrawek z powiększenia 40x. (C) Szczur po podaniu gliotoksyny L-AAA; widoczna patologia astrocytów – spadek ich gęstości, zniekształcenie i zmniejszenie ilości wypustek; powiększenie obj. 20x. (D) Ten sam skrawek; pow. obj. 40x. Fotografowała Helena Domin.

międzykomórkowej. Glutaminian transportowany jest do wnętrza astrocytu przy pomocy specyficznego transportera (u szczurów jest to GLT1). Badacze amerykańscy: Shanon, Gourley, Espitia, Sanacora oraz Taylor wykazali w 2012 roku w modelu depresji

niżenie poziomu białka koneksyny w tej strukturze. Warto przy tym przypomnieć, że pośmiertne badania mózgow chorych na depresję (MD) wykazywały zmiany patologiczne astrocytów i ich degeneracje właśnie w korze przedczołowej.

Tak jak w modelach depresji u zwierząt można stwierdzić pojawianie się różnych specyficznych uszkodzeń i degeneracji astrocytów, tak z drugiej strony uszkodzenia astrocytów wywołują u zwierząt eksperymentalnych objawy depresyjne wykazywane w specyficznych testach behawioralnych. Najwięcej badań w tym kierunku przeprowadzono w latach

2008–2012. I tak uszkodzenia transportu Glu do astrocytów przez zablokowanie wychwytu glutamianu podaniem selektywnych inhibitorów GLT1 do kory przedczołowej szczurów skutkuje wystąpieniem u tych zwierząt zachowań depresyjnych. Stwierdzono również, że myszy pozbawione aquaporyny 4 mają obniżony poziom GLT1. W innych badaniach w 2012

Tab. 2. Wpływ terapii antydepresyjnej na astrocyty.

ECS – terapia elektrowstrząsowa w depresji (ang. *Electroconvulsive shock*); mGluR5 – receptor glutaminianergiczny metabotropowy, typu 5.

Terapia antydepresyjna	Autorzy
Leki przeciwdepresyjne hamują spadek gęstości komórek glejowych w depresji.	Bowley i wsp. 2002
Wzrost zawartości GFAP po ECS u szczurów w hipokampie, ciele migdałowatym i korze gruszkowatej i u małp w hipokampie i neocortex.	Kragh i wsp. 1993, Steward 1994, Dwork i wsp. 2004
Odwracanie przez clomipraminę obniżonego przez stres chroniczny poziomu GFAP w hipokampie u szczurów.	Liu i wsp. 2009
Po paroxetine wzrost ekspresji GFAP w hipokampie.	Sillaber i wsp. 2008
Wzrost ekspresji koneksyny 43 w astrocytach w korze przedczołowej po chronicznym traktowaniu fluoksetyną lub kłozapiną u szczurów.	Fatemi i wsp. 2008
Aktywacja przez leki antydepresyjne szlaków sygnałowych w astrocytach, ERK/MAP, u szczurów.	Czeh i di Benedetto 2013
Antydepresanty regulują specyficzne dla astrocytów geny produkujące między innymi GFAP i akwaporynę 4.	Nichols 2003, Takahashi i wsp. 2005, Conyi i wsp. 2007, Sillaber i wsp. 2008.
Antydepresanty zmieniają ekspresję astrocytarnych receptorów i transporterów.	Czeh i DiBenedetto 2013
Fluoksetyna po chronicznym podawaniu hamuje wychwyt zwrotny 5-HT w astrocytach kory szczura, nasila gliogenezę, zapobiega obniżeniu gęstości astrocytów po stresie chronicznym, podnosi ekspresję GLT1 w hipokampie, podnosi poziom białka koneksyny 43.	Dave i Kimelberg 1994; Czeh i wsp. 2006; Banas i Duman 2008; Kusakawa i wsp. 2010
Fluoksetyna, duloksetyna i mifepristone – odwracają wywołane przez chroniczny stres ultrastrukturalne uszkodzenia połączeń szczelinowych i spadki poziomu koneksyny w korze przedczołowej szczura.	Sun i wsp. 2012.
Clomipramina – odwraca wywołany chronicznym stresem spadek ekspresji GFAP, glejowego czynnika troficznego GDNF, oraz deficyty behawioralne w szczurzym modelu depresji.	Liu i wsp. 2009, 2012
Myszy pozbawione akwaporyny 4 (Aqp4) wykazują obniżony poziom GLT1 i osłabioną odpowiedź na fluoksetynę. Aqp4 jest więc niezbędna do działania przeciwdepresyjnego i wpływa na plastyczność synaptyczną.	Kong i wsp. 2009, Li i wsp. 2012



roku wykazano także, że farmakologiczna blokada połączeń szczelinowych w korze przedczołowej szczurów, przez infuzję karbonoksolonu do tej struktury, wywołuje behawioralne objawy depresji.

Przeprowadzono również eksperymenty, w których wybiórczo uszkodzono astrocyty w wybranych strukturach mózgu przez podanie gliotoksyny – kwasu alfa-aminoadipinowego (L-AAA). Toksyna ta niszczy astrocyty ale nie neurony. Degeneracja astrocytów w korze przedczołowej szczura wywołana miejscowym podaniem L-AAA wywołuje efekty behawioralne depresji (anhedonia, wydłużenie czasu bezruchu w teście pływania, nasilenie aktywnego unikania). Efekty te były swoiście związane z uszkodzeniem astrocytów, gdyż nie występowały po podaniu kwasu ibotenowego, toksyny wybiórczo niszczącej neurony. W naszych badaniach w latach 2013–2014 również obserwowany był spadek gęstości astrocytów i atrofia ich wypustek w korze przedczołowej szczura po podaniach L-AAA do tej struktury (Ryc. 1A, B, C, D). U szczurów tych wystąpiły również behawioralne objawy depresji.

### Wpływ terapii antydepresyjnej na astrocyty

Za istotnym związkiem między depresją a patologią astrocytów przemawiają również wyniki licznych eksperymentów, w których wykazano, że leki przeciwdepresyjne (a także inne terapie przeciwdepresyjne) skuteczne w klinice hamują uszkodzenia i poprawiają funkcję astrocytów (Tabela 2).

### Uwagi końcowe

Przedstawione w niniejszym artykule dane przemawiają za istotną rolą astrocytów w patogenezie depresji. Uszkodzenia i/lub dysfunkcja astrocytów, zwłaszcza w przednich obszarach korowych i limbicznych, związanych z emocjami jest obserwowana zarówno w depresji u ludzi, jak i w zwierzęcych modelach, a leki przeciwdepresyjne nie tylko hamują behawioralne objawy depresji, ale też znoszą lub odwracają efekty, zarówno behawioralne, jak i morfologiczne oraz molekularne.

Warto jeszcze wspomnieć, że istnieje również mocno uzasadniona hipoteza o **immunologicznej patogenezie depresji**. We krwi pacjentów depresyjnych stwierdzano bowiem podniesiony poziom cytokin

prozapalnych. W mózgu cytokiny te aktywują zarówno neurony, jak i komórki nieneuronalne (mikroglej, astrocyty i oligodendrocyty) przez kaskadę NF-kappa-b (ang. *Nuclear factor-kappa-beta*), podobnie jak przy odpowiedzi zapalnej na obwodzie. Interleukiny prozapalne nasilają objawy depresji i indukują uwalnianie z aktywowanego mikrogleju i astrocytów reaktywnych form tlenu i azotu, które mają działanie toksyczne na neurony i glej. Końcowym rezultatem tych procesów są degeneracje astrocytów i oligodendrocytów oraz apoptoza neuronów, zwłaszcza w korze przedczołowej i strukturach limbicznych, a więc w obszarach mózgu uważanych za kluczowe w rozwoju symptomów depresji. Za udziałem stanu zapalnego w rozwoju depresji przemawiają wyniki kliniczne, w których stwierdzono, że u pacjentów, u których skuteczna była terapia lekami przeciwdepresyjnymi, obniżał się poziom markerów stanu zapalnego. Również w badaniach *in vitro* wykazano, że antydepresanty hamują produkcję cytokin prozapalnych. Hipoteza zapalna depresji nie neguje roli koncepcji astrocytarnej, gdyż stany zapalne modulują także funkcje astrocytów. Istnieje też koncepcja wysuwająca na pierwszy plan **rolę czynników troficznych w depresji** i koncepcja ta wiąże się z astrocytami, gdyż komórki te zarówno produkują, jak i posiadają receptory wiążące te czynniki. Astrocyty produkują bowiem czynniki troficzne, takie jak mózgowy czynnik neurotroficzny (BDNF) (ang. *brain derived neurotrophic factor*), glejowy czynnik troficzny (GDNF) (ang. *glial derived neurotrophic factor*), fibroblastyczny czynnik wzrostu2 (FGF2) (ang. *fibroblast growth factor2*) i czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowej (VEGF) (ang. *vascular endothelial growth factor*). Stwierdzano, że leki przeciwdepresyjne nasilają ekspresję i uwalnianie tych czynników, co może przyczyniać się do naprawy uszkodzonych w depresji sieci nerwowych i astrocytarnych i interakcji astrocyt-neuron.