



## Regulacja osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej w reakcjach stresowych

*The hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in stress responses*

ANNA SKÓRZEWSKA<sup>1</sup>, MAŁGORZATA ZIENOWICZ<sup>2</sup>, MAŁGORZATA LEHNER<sup>1</sup>,  
ALEKSANDRA WISŁOWSKA<sup>2</sup>, PIOTR MACIEJAK<sup>1,2</sup>, JANUSZ SZYNDLER<sup>1</sup>,  
ADAM PŁAŻNIK<sup>1,2</sup>

Z: 1. Zakładu Neurochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

2. Katedry i Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej w Warszawie

**STRESZCZENIE. Cel:** Omówienie aktywności układu podwzgórze–przysadka–nadnercza w warunkach fizjologicznych i stresowych oraz przedstawienie zależności pomiędzy osią HPA a innymi neuroprzekaznikami. **Poglądy:** Układ podwzgórze–przysadka–nadnercza odgrywa istotną rolę w procesach adaptacyjnych organizmu do warunków stresowych. Oś HPA koordynuje i kontroluje wydzielanie glikokortykosteroidów z kory nadnerczy do krwi. Zaburzenia funkcjonowania osi HPA występują w wielu chorobach psychicznych, m. in. depresji, pourazowych zaburzeniach stresowych (PTSD). Aktywność układu podwzgórze–przysadka–nadnercza jest regulowana przez liczne układy neuroprzekaznikowe, m.in. glutaminia-nergiczny, GABA-ergiczny, serotonergiczny oraz neurosteroidy. **Wnioski:** W warunkach przewlekłego stresu dochodzi do zaburzenia aktywności osi HPA i nadmiernej sekrecji hormonów steroidowych. Przedstawione wyniki badań wskazują, że antagoniści receptora CRF<sub>1</sub> mogą stanowić nową grupę leków przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych.

**SUMMARY. Objective:** The paper outlines not only physiological and stress-related activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, but also interactions between the HPA axis and other neurotransmitters. **Review:** The hypothalamic-pituitary-adrenal axis plays an important role in adaptation of the organism to stressful situations, as it controls and co-ordinates stress-induced increases in the secretion of glucocorticoids. Abnormalities in the HPA axis activity are associated with various mental disorders, e.g. depression or posttraumatic stress disorder (PTSD). The HPA axis activity is modulated by many neurotransmitter systems (including glutamatergic, GABA-ergic, and serotonergic) and by neurosteroids. **Conclusions:** Chronic stress induces abnormalities in the HPA activity and leads to an excessive glucocorticoid secretion. Explanation of the mechanism regulating the HPA axis activity is most important for understanding response of the organism to aversive stimuli. The presented findings indicate that CRF subtype 1 receptor antagonists may represent a novel group of drugs for the pharmacotherapy of depression and/or anxiety disorders.

**Słowa kluczowe:** stres / oś HPA / depresja / PTSD / glutaminian / GABA / 5-HT / neurosteroidy

**Key words:** stress / HPA axis / depression / PTSD / glutamate / GABA / 5-HT / neurosteroids

### Słownik skrótów:

ACTH	– kortykotropina;	CP-154,526,
AMPA	– kwas $\alpha$ -amino-3-hydroksy-5-metylo-	CRA1000,
	-4-izoksazolopropionowy;	CRA1001,
		R121919
CBG	– globulina wiążąca steroidy;	– antagoniści receptora CRF <sub>1</sub> ;
		CRF
		– kortykoliberyna;

CRF <sub>1</sub> ,		LC	– miejsca sinawe;
CRF <sub>2α</sub> ,		mGluR	– receptor metabotropowy dla glutaminianu;
CRF <sub>2β</sub> ,		MPEP	– antagonist receptoru grupy I GluR;
CRF <sub>2γ</sub>	– poszczególne podtypy receptorów dla kortykoliberyny;	MR	– receptory mineralokortykoidowe;
GABA	– kwas gammaaminomasłowy;	NMDA	– kwas N-metylo-d-asparaginowy;
GABA <sub>A</sub> ,		oś HPA	– oś podwzgórze–przysadka–nadnercza;
GABA <sub>B</sub>	– podtypy receptorów kwasu gammaaminomasłowego;	o.u.n.	– ośrodkowy układ nerwowy;
GluR	– receptor jonotropowy dla glutaminianu;	POMC	– proopiomelankortyna;
GR	– receptory glikokortykoidowe;	PTSD	– pourazowe zaburzenia stresowe;
5-HT	– serotonina;	PVN	– jądra przykomorowe podwzgórza;
5-HT <sub>2A/2C</sub> ,		SSRI	– selektywne inhibitory wychwytu zwrotnego serotoniny;
5-HT <sub>1A</sub>	– podtypy receptorów serotoniny;	THDOC	– tetrahydrodeoksykortykosteron;
		THP	– tetrahydroprogesteron

Stres jest uważany za zespół swoistych reakcji, zależnych od rozmaitych czynników, charakteryzujących się ściśle określonymi mechanizmami i funkcjonalną lokalizacją w ośrodkowym układzie nerwowym [1]. Ogólnie stres można określić jako stan organizmu wyróżniający się wzrostem napięcia emocjonalnego, wywołany przez czynniki zagrażające lub udaremniające zaspokojenie potrzeb [2].

Traktując stres jako reakcję na „wymagania” stawiane organizmowi wyróżniamy dwa rodzaje stresu: psychologiczny i biologiczny. Stres psychologiczny określa zmiany zachodzące na poziomie mechanizmów regulacyjnych, czyli w obszarze emocjonalno-motywacyjnym [2, 3]. Natomiast stres biologiczny obejmuje wszystkie reakcje autonomiczne zachodzące w organizmie, zmierzające w kierunku przezwyciężenia skutków działania czynnika szkodliwego [2]. Odpowiedź organizmu na warunki stresujące jest kontrolowana przez układ nerwowy (część współczulną autonomicznego układu nerwowego) i układ hormonalny (oś podwzgórze–przysadka–nadnercza). Po aktywacji układu współczulnego, występują reakcje fizjologiczne, takie jak: tachykardia, tachypnoe, redystrybucja krwi (odpływ krwi ze skóry do mięśni szkieletowych). Skutki pobudzenia osi podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA) pojawiają się

znacznie później (do kilku godzin) i utrzymują się nawet do kilku dni [4].

W artykule przedstawiono rolę osi HPA w regulowaniu reakcji psychicznych i fizjologicznych oraz zależność pomiędzy tym układem a innymi systemami neuroprzekaznikowymi w warunkach stresowych.

## AKTYWNOŚĆ OSI PODWZGÓRZE–PRZYSADKA–NADNERCZA

### Funkcjonowanie osi HPA w warunkach fizjologicznych i w stresie

Układ podwzgórze–przysadka–nadnercza (HPA) odgrywa podstawową rolę w procesach przystosowawczych organizmu do warunków stresu. Oś HPA koordynuje i kontroluje wydzielanie glikokortykosteroidów z kory nadnerczy do krwi. Sekrecja glikokortykosteroidów jest zależna bezpośrednio od kortykotropiny (hormonu adrenokortykotropowego – ACTH) wydzielanej z przysadki i pośrednio od kortykoliberyny (*corticotropin-releasing factor* – CRF), hormonu uwalniającego z jąder przykomorowych podwzgórza [4]. „Kaskada” tych hormonów jest aktywowana ilekroć neurony produkujące CRF w podwzgorzu zostaną pobudzone przez impulsy nerwowe z innych okolic mózgu. Kortykoliberyna jest transportowana naczyniami

krwionośnymi do przedniego płata przysadki, gdzie wpływa na syntezę proopiomelanokortyny (POMC), prohormonu, z którego powstaje m.in. przysadkowy hormon adrenokortykotropowy [2]. Wraz z kortykoliberyną jest wydzielana wazopresyna, która nasila sekrecję ACTH pod wpływem CRF. W warunkach podstawowych kortykotropina wydzielana jest w sposób pulsacyjny, najczęściej wczesnym rankiem [5]. W nadnerczach ACTH działa bezpośrednio na ich obwodową część – warstwę pasmowatą części korowej, w której produkowane są hormony steroidowe tzw. glikokortykosteroidy (kortyzol u ludzi; kortykosteron u gryzoni) [6]. Dzięki istnieniu ujemnego sprzężenia zwrotnego, glikokortykosteroidy hamują wydzielanie podwzgórzowego hormonu tropowego, jak i ACTH (rys. 1) [6]. Stopień zahamowania czynności podwzgórza i przysadki jest proporcjonalny do stężenia krążących we krwi glikokortykosteroidów [5, 6].

Glikokortykosteroidy działają za pośrednictwem dwóch typów receptorów steroidowych [7, 8]:

- typ 1 – receptory mineralokortykoidowe (MR), występujące w dwóch podtypach: receptory dla aldosteronu i receptory dla kortykosteronu,
- typ 2 – receptory glikokortykoidowe (GR).

Receptory mineralo- i glikokortykoidowe charakteryzują się kolokalizacją w hipokampie, przegrodzie i jądrach ciała migdałowatego, strukturach mózgu związanych z regulacją odczuwania lęku. Ponadto receptory glikokortykoidowe zlokalizowane są także w innych obszarach mózgu, a ich największą kumulację stwierdzono w rejonach regulujących sprzężenie zwrotne hormonalnej reakcji na stres: jądrach przykomorowych podwzgórza i przysadce [7, 8]. Badania przedkliniczne wykazały wysoką ekspresję receptorów MR i GR w hipokampie [9]. Wzrost stężenia glikokortykosteroidów hamuje procesy neurogenezy w zakręcie zębatym hipokampa [10]. Ponadto kortyzol i kortykosteron powodują atrofię komórek dendrytycznych w obszarze CA3 hipokampa [9, 10].

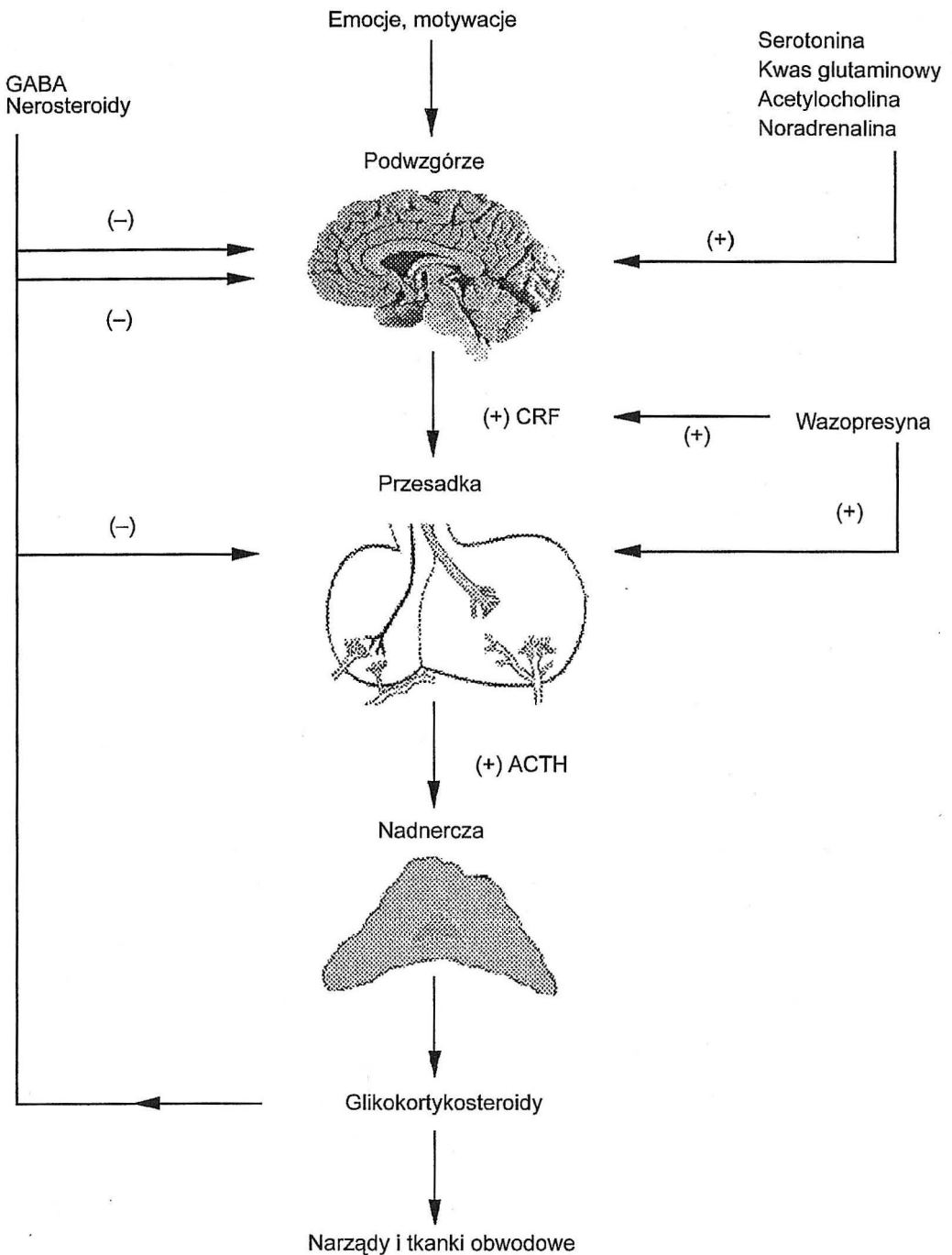
Receptory mineralo- i glikokortykoidowe charakteryzują się różnym powinowactwem wobec kortykosteronu (GR wykazują 10-krotnie niższe powinowactwo dla kortykosteronu niż MR) [8]. Badania przedkliniczne wykazały wpływ MR na regulację dobowej zmienności poziomu kortykosteronu (kontrolują wydzielanie ACTH podczas rytmu dobowego osi HPA). Receptory GR odgrywają istotną rolę w reakcji organizmu na czynnik stresowy, gdy stężenie glikokortykosteroidów jest wysokie [8]. De Kloet i in. [1998] wykazali, że MR pobudzają receptory GR, które są niezbędne do regulacji sprzężenia zwrotnego osi HPA [7].

Pod wpływem stresu dochodzi do zwiększonej sekrecji ACTH, a w następstwie do zwiększenia stężenia glikokortykosteroidów. Krótkotrwały wzrost stężenia kortyzolu i kortykosteronu we krwi jest korzystny dla organizmu [5]. Natomiast utrzymujący się przez dłuższy czas zwiększony poziom glikokortykosteroidów może zaburzyć regulację hormonalną i przyczyniać się do wystąpienia m.in. zespołu Cushinga. Ponadto, nadmierną sekrecją glikokortykosteroidów zaobserwowano w takich chorobach afektywnych, jak depresja endogenna [6].

### **Metabolizm, wydalanie i rola glikokortykosteroidów**

Kortyzol i kortykosteron wiążą się z białkami osocza: alfa-globuliną (transkortyną) lub globuliną wiążącą steroidy (*corticosteroid-binding globulin* – CBG) oraz w mniejszym stopniu z albuminami. Steroidy związane z białkami osocza są fizjologicznie nieaktywne, funkcjonują jako „magazyn” kortyzolu lub kortykosteronu. We krwi krąży niewielki procent glikokortykosteroidów w postaci aktywnej [5].

Glikokortykosteroidy są metabolizowane w wątrobie. Znaczna część kortyzolu jest redukowana do dehydrokortyzolu, a następnie do tetrahydrokortyzolu, który jest wiązany z kwasem glukuronowym. Pewne ilości kortyzolu ulegają przemianie do kortyzonu, który bardzo szybko jest redukowany do



CRF – kortykoliberyna

(-) – sprzężenie zwrotne ujemne

ACTH – hormon adrenokortykotropowy

(+) – sprzężenie zwrotne dodatnie

Rysunek 1. Schemat przedstawiający regulację osi HPA wg Spencera i Hutchisona [4]

glukuronidu tetrahydrokortyzonu. Pochodne tetrahydroglukuronowe kortyzonu przechodzą do moczu, częściowo na drodze sekrecji kanalikowej. Niewielki procent kortyzolu (10%) i kortyzonu ulega przemianie do 17-ketosteroidowych pochodnych, które są wiązane z siarczanami i wydalane z moczem. Przemiana kortykosteronu jest podobna do przemiany kortyzolu, ale nie tworzy on pochodnych 17-ketosteroidowych [5].

Kortyzol i kortykosteron regulują metabolizm węglowodanów, białek i lipidów, zwiększając katabolizm białek i przyspieszając procesy glikogenezy i glukoneogenezy [5]. Hamując czynność mitotyczną limfocytów, glikokortykosteroidy redukują ich liczbę oraz zmniejszają wielkość węzłów chłonnych i grasicy. Kortyzol i kortykosteron zmniejszają liczbę krążących we krwi granulocytów kwasochłonnych, poprzez zatrzymanie ich dojrzewania i migracji (zmniejszenie ekspresji cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek). Glikokortykosteroidy zwiększają natomiast liczbę granulocytów obojętnochłonnych, płytek krwi i krwinek czerwonych [5]. Syntetyczne glikokortykosteroidy są wykorzystywane w leczeniu stanów zapalnych (choroby tkanki łącznej) i uczuleniach (astma oskrzelowa). Ponadto stosuje się je jako leki immunosupresyjne i w niektórych chorobach nowotworowych [5].

### Budowa i rola kortykoliberyny

Vale i in. w 1981 r. wyizolowali i scharakteryzowali strukturę kortykoliberyny (CRF). Jest to peptyd złożony z 41 aminokwasów, regulujący sekrecję kortykotropiny z przedniego płata przysadki, jak również pośredniczący w autonomicznej i behawioralnej reakcji na stres [11, 12, 13].

Badania metodą hybrydyzacji *in situ* wykazały obecność dwóch podtypów receptora CRF: CRF<sub>1</sub> i CRF<sub>2</sub>. U ssaków receptor CRF<sub>2</sub> występuje w dwóch odmianach: CRF<sub>2α</sub> i CRF<sub>2β</sub>. U ludzi dodatkowo wykazano obecność receptora CRF<sub>2γ</sub> [13]. Receptory CRF<sub>1</sub> i CRF<sub>2</sub> występują w odmiennych rejonach mózgu. Badania przedkliniczne i kli-

niczne potwierdziły obecność receptorów CRF<sub>1</sub> w następujących strukturach o.u.n.: przysadka, hipokamp, kora, podwzgórze oraz mózdzek [14]. Ponadto, u gryzoni stwierdzono występowanie receptorów CRF<sub>1</sub> w jądrze migdałowatym, zwojach podstawy, jądrach wzgórza, istocie szarej okołowodociągowej, jądrach pnia mózgu (sensorycznych i motorycznych) [13, 15]. Receptory CRF<sub>2α</sub> u ludzi zostały zlokalizowane w przegrodzie bocznej, jądrze migdałowatym i przysadce [14]. Natomiast u szczurów receptory CRF<sub>2α</sub> występują w przegrodzie bocznej, jądrach podstawnych prążka krańcowego, jądrach brzuszno-przyśrodkowych podwzgórza, jądrach ciała migdałowatego oraz opuszcze węchowej [13, 14]. Badania przedkliniczne i kliniczne wykazały obecności receptorów CRF<sub>2β</sub> w tętnicach mózgu, splocie naczyniowym, sercu i mięśniach szkieletowych [13, 14]. Receptory CRF<sub>2γ</sub> zostały zlokalizowane w przegrodzie, hipokampie i jądrze migdałowatym [14]. Receptory CRF<sub>1</sub> pośredniczą w endokrynnej i behawioralnej reakcji na stres. Natomiast rola receptorów CRF<sub>2</sub> nie jest jasna, prawdopodobnie uczestniczą w regulacji ciśnienia krwi [13].

Kortykoliberyna uważana jest za jeden z decydujących czynników reakcji organizmu na stres, rozpoczyna, reguluje i hamuje odpowiedź osi HPA na bodźce awersyjne. Badania przedkliniczne wykazały, że CRF podany dokomorowo wywołuje symptomy lęku i depresji [11, 12, 13]. Ponadto podanie CRF do mózgu nasilało behawioralną reakcję zwierząt na stres: wokalizację, *freezing*, zaburzenia snu oraz zmniejszało pobudliwość seksualną [12]. Działanie behawioralne wywołane przez CRF jest znoszone przez antagonistów receptora CRF<sub>1</sub> [11]. Badania przedkliniczne wykazały, że jednorazowe podania antagonistów receptora CRF<sub>1</sub> (CP-154,526, antalarminy, CRA1000, CRA1001, R121919) hamują wzrost poziomu ACTH w surowicy i wykazują aktywność przeciwlękową w warunkach stresu, podobnie do działania innych leków anksjolitycznych: buspironu i diazepamu [12, 13]. Ponadto w teście „wyczonej

bezradności” udokumentowano przeciwdepresyjne działanie CP-154,526 [11]. Przewlekłe stosowanie niskich dawek CP-154,526, podawanych po bodźcu awersyjnym (badanie odruchu zamykania powieki) wywołuje wzrost stężenia ACTH i kortykosteronu w surowicy zarówno w zwierząt po otrzymaniu substancji, jak i „naiwnych” (nieotrzymujących antagonisty). Podwyższony poziom kortykosteronu wcześniej powraca do podstawowego stężenia u zwierząt po podaniach niż „naiwnych” [16]. Nie zaobserwowano podobnego działania po podaniu pojedynczej dawki CP-154,526 [16]. Przewlekłe stosowanie CP-154,526 blokuje zarówno receptory CRF<sub>1</sub>, jak i syntezę/sekrecję glikokortykosteroidów. Powyższe procesy prawdopodobnie zmniejszają poziom kortykosteronu u zwierząt badanych [17]. Wyniki badań sugerują, że antagoniści receptora CRF<sub>1</sub> mogą stanowić nową grupę leków przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych [16].

### **Badania kliniczne dotyczące funkcjonowania osi HPA**

Zaburzenia funkcjonowania osi HPA występują w wielu chorobach psychicznych. Kortykolibera odgrywa ważną rolę w patomechanizmie chorób związanych z wpływem stresu: depresji, pourazowych zaburzeniach stresowych (PTSD), uzależnieniach lekowych, nadciśnieniu tętniczym [13]. Badania kliniczne wykazały wzrost aktywności osi HPA u osób chorych na depresję endogenną [6]. Zaobserwowano zaburzenia całodobowego wydzielania kortykotropiny, wzrost wydzielania kortyzolu i stężenia wolnego kortyzolu w moczu oraz brak zahamowania sekrecji ACTH i kortykosteroidów po podaniu syntetycznego glikokortykosteroidu – deksametazonu [6]. Mechanizm tych procesów nie jest jasny, prawdopodobnie wywołane są przez zmniejszenie liczby receptorów glikokortykoidowych, regulujących ujemne sprzężenie zwrotne osi HPA [17].

Badania aktywności osi podwzgórze–przysadka–nadnercza u osób z pourazowymi zaburzeniami stresowymi (PTSD) wykazały

zmniejszenie podstawowego stężenia kortyzolu krążącego we krwi [18]. Wyniki badań sugerują, że jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za ten proces jest prawdopodobnie zaburzenie ujemnego sprzężenia zwrotnego wydzielania glikokortykosteroidów, związane ze zwiększoną wrażliwością GR zlokalizowanych w mózgu [18, 19]. Innym mechanizmem odpowiedzialnym za spadek poziomu kortyzolu we krwi może być zmniejszenie stężenia globuliny wiążącej steroidy (CBG). Wraz ze zmniejszeniem stężenia w osoczu CBG mniejsza ilość kortyzolu ulega związaniu i dochodzi do zwiększenia stężenia jego aktywnej formy. W tej sytuacji zostaje zahamowana sekrecja ACTH i kortyzolu, aż do ustalenia stanu równowagi, w którym stężenie związanego kortyzolu jest prawidłowe, natomiast zmniejszony jest poziom wolnego kortyzolu [20].

Badania kliniczne dowiodły wpływ wieku na stopień aktywności osi HPA. U ludzi starszych zaobserwowano zwiększony poziom kortyzolu w osoczu, w porównaniu z osobami młodszymi [21]. Badania reakcji na stres u kobiet wykazały zwiększony poziom CRF, ACTH i kortyzolu we krwi u pań po menopauzie [22]. Odmienne wyniki otrzymali Kudielka i in. (2004), którzy nie wykazali żadnych różnic czynności osi HPA zależnych od wieku i płci [23].

### **UDZIAŁ STRUKTUR OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO W REAKCJACH STRESOWYCH**

W odpowiedź na stres zaangażowane są liczne struktury o.u.n., związane zarówno z percepcją i przetwarzaniem bodźców stresowych, jak również reakcjami autonomicznymi i neurohumoralnymi. Ponieważ stres jest połączony m. in. z uczuciem lęku, strachu, trudno jest wiązać z nim pojedynczy szlak neuronalny. Ponadto osobnicze reakcje na stres zależą od wielu czynników m. in. wieku oraz rodzaju, natężenia i czasu trwania bodźca.

Jedną z metod oznaczania aktywności neuronalnej jest badanie ekspresji genów wczesnej odpowiedzi komórkowej c-fos. Uważa się, że zarówno mRNA, jak i produkt białkowy genu c-fos są także markerami aktywacji komórki [24]. Mapowanie aktywności neuronalnej przez określenie poziomu białka c-Fos jest pomocne w identyfikacji struktur układu nerwowego zaangażowanych w procesy fizjologiczne i patologiczne. Dotychczasowe badania ekspresji białka c-Fos wskazują na aktywację licznych struktur korowych i podkorowych w odpowiedzi na bodźce stresowe: kory czołowej, jądrach półleżących, jądrach prążka krańcowego, jądrach ciała migdałowatego, hipokampa, jądrach przykomorowych podwzgórza, miejsca sinawego, jądrach pasma samotnego, istoty szarej okołowodociągowej [25]. Informacja o zagrożającym niebezpieczeństwie przekazywana jest drogami czuciowymi do jąder przykomorowych podwzgórza (PVN), gdzie następuje aktywacja osi HPA (u młodych zwierząt czynnik stresowy wywołuje ekspresję białka c-Fos w PVN, u dorosłych szczurów w jądrze migdałowatym i istocie szarej okołowodociągowej) [26].

Kabbaj i in. (2001) zaobserwowali, że zwierzęta tego samego gatunku i szczepu o słabszej reakcji lękowej, charakteryzują się niższą ekspresją c-Fos w obszarze CA1 hipokampa, a wyższymi poziomami c-Fos w obszarach wężomózgowia, kory obręczy, grzbietowej części prążkownia oraz przykomorowego jądra podwzgórza (PVN) [27]. Interesujący jest fakt, że u szczurów mniej lęklivych do krwioobiegu uwalniane są większe ilości kortykosteronu. Jedną z hipotez, wyjaśniającą to zjawisko sugeruje, że u szczurów o słabszej reakcji lękowej dochodzi do zmniejszenia ilości receptorów dla CRF. W wyniku tego procesu zwiększona zostaje synteza i wydzielanie POMC oraz ACTH, co w konsekwencji prowadzi do wzrostu poziomu kortykosteronu [27].

Najważniejszymi testami stosowanymi do oceny reakcji stresowych w modelach zwierzęcych są: ograniczenie ruchów – unie-

rumienie (immobilizacja), „wymuszone” pływanie, działanie bodźcem awersyjnym [28]. Badania przedkliniczne wykazały odmienną aktywację białka c-Fos, zależną od siły bodźca [25]. Słaby bodziec, np. ograniczenie ruchów, powoduje wzrost c-Fos w miejscu sinawym (*locus ceruleus* – LC) i jądrze przykomorowym podwzgórza (PVN) [25]. Aktywacji komórek towarzyszy stymulacja osi HPA objawiająca się wzrostem stężenia hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) i kortykosteronu w osoczu, zmniejszającym się po 3 godzinach od ekspozycji [28]. Narażenie na mocniejszy bodziec, taki jak unieruchomienie, prowadzi do wyższego poziomu ekspresji c-Fos w LC i PVN, z przewlekłą aktywacją osi HPA i stałym wzrostem kortykosteronu w osoczu (3 godziny od zadziałania bodźca) [28]. Ekspozycja na taki szczególnie intensywny bodziec, jak bodziec elektryczny, wywołuje wzrost ekspresji c-Fos w LC i PVN i wzrost poziomu kortykosteronu, utrzymujący się do 14 dni [28]. Wyniki powyższych badań wykazują, że wzrost ekspresji białka c-Fos oraz aktywność osi HPA uzależnione są od intensywności i częstotliwości bodźca awersyjnego.

## WPLYW WYBRANYCH SYSTEMÓW NEUROPRZEKAŹNIKOWYCH NA AKTYWNOŚĆ OSI HPA

Aktywność układu podwzgórze–przysadka–nadnercza jest regulowana przez liczne układy neuroprzeźnikowe, m.in. glutaminianergiczny, GABA-ergiczny, serotoniner-giczny, noradrenergiczny, cholinergiczny oraz neurosteroidy. Poniżej przedstawiono powiązania pomiędzy osią HPA i wybranymi neuroprzeźnikami.

### Wpływ glutaminianu na aktywność osi HPA

Aktywacja osi HPA przez stres zależy od rodzaju i intensywności bodźca i jest modyfikowana przez wiele układów neuroprzeźnikowych, spośród których pierwszorzędne

znaczenie ma kwas glutaminowy. Mikroiniekcje glutaminianu do komór lub bezpośrednio do PVN podwzgórza, stymulują uwalnianie ACTH [29, 30]. Rola poszczególnych podtypów receptorów glutaminianergicznych, regulujących oś HPA nie jest jasna [30]. Badania przedkliniczne wykazały, że pobudzenie receptorów jonotropowych (NMDA i kainowych) zwiększało stężenie ACTH i nasilało wydzielanie kortykosteronu [29]. Natomiast blokada tych receptorów przez antagonistów (MK-801 i kwas kynureinowy) hamowała wydzielanie kortykosteronu pod wpływem stresu [29, 30]. Wyniki tych podań potwierdzają hipotezę wpływu glutaminianu na aktywność neuronów PVN [29]. Z drugiej strony, antagonisty receptora AMPA/kainowego (DNQX) zwiększały poziom ACTH w jądrze PVN podwzgórza [30].

Badania roli receptorów jonotropowych dla kwasu glutaminowego (AMPA i NMDA) wskazują, że skład podjednostek jest regulowany przez mineralokortykoidy i glikokortykoidy. Wykazano, że długotrwała aktywacja receptorów mineralokortykoidowych i glikokortykoidowych przez kortykosteron zmienia skład podjednostek receptorów AMPA (GluR-1, R-2, R-3, R-4) i NMDA (R-1, R-2A, R-2B, R-2C), zwiększając napływ  $Ca^{2+}$  do komórki [31]. Podniesiony poziom wapnia wraz ze zwiększonym stężeniem kortykosteronu może prowadzić do degeneracji neuronów obszaru CA1 hipokampa [31].

Niewiele prac dotyczy roli receptorów metabotropowych (mGluR) dla glutaminianu w regulacji czynności osi HPA. Uważa się, że oś HPA pozostaje głównie pod kontrolą receptorów grupy I (mGluR<sub>1</sub>, mGluR<sub>5</sub>) i grupy III (mGluR<sub>4</sub>, mGluR<sub>6</sub>, mGlu<sub>7</sub>, mGluR<sub>8</sub>) podwzgórza [30]. Badania przedkliniczne wykazały, że dokomorowe iniekcje agonistów receptorów grupy I mGluR (DHPG, ACPD, CHPG) i agonistów grupy III (L-AP4 i L-SOP) podnoszą poziom kortykosteronu w surowicy [30]. Ponadto podanie antagonisty receptora grupy I mGluR (MPEP) zwiększa poziom ACTH i kortykosteronu [30, 32]. Bradbury i in. (2003) sugerują, że pobudze-

nie osi HPA przez MPEP może być wywołane za pośrednictwem układu serotonergicznego. Przewlekłe podawanie MPEP powoduje desensytyzację autoreceptorów 5-HT<sub>1A</sub> i nasilenie wydzielania serotoniny, która z kolei aktywuje oś podwzgórza–przysadka–nadnercza [30, 32].

Najnowsze badania wykazały, że receptory grupy II (mGlu<sub>2</sub> i mGlu<sub>3</sub>) w warunkach fizjologicznych także regulują aktywność osi HPA [30]. Aktywacja tych receptorów w podwzgorzu ogranicza wydzielanie CRF w odpowiedzi na stres, natomiast antagoniści receptorów mGluR<sub>2/3</sub> zwiększają sekrecję CRF [30].

### Wpływ GABA na aktywność osi HPA

Jądra przykomorowe podwzgórza pełnią ważną rolę w kontrolowaniu i integracji sygnałów pobudzających i hamujących oraz koordynują uwalnianie CRF, regulując w ten sposób stopień i czas trwania odpowiedzi stresowej [29]. Dane morfologiczne i neuroanatomiczne dowodzą, że 47% połączeń synaptycznych w jądrach przykomorowych podwzgórza (PVN) stanowią synapsy GABA-ergiczne. Badania wykazały obecność GABA wewnątrz neuronów zawierających CRF w podwzgorzu [29]. Wydaje się, że oś HPA jest głównie pod kontrolą receptorów GABA<sub>A</sub>, chociaż nie wyklucza się udziału receptorów GABA<sub>B</sub> [29]. Agoniści GABA<sub>A</sub> hamują uwalnianie CRF wywołane przez serotoninę, zarówno w hodowlach komórkowych jak i *in vivo* [29]. Podanie muscimolu (agonista receptora GABA<sub>A</sub>) (900 pmol) do PVN hamowało sekrecję kortykosteronu wywołaną bodźcem awersyjnym (immobilizacja). Natomiast 5-krotnie wyższe dawki muscimolu odwracały tę reakcję – zwiększały wydzielanie hormonu [29]. Nadmiar agonisty wywołał aktywację receptorów GABA<sub>A</sub> w strukturach otaczających PVN, które hamowały projekcje neuronów GABA-ergicznych do jąder przykomorowych podwzgórza [29]. Z kolei, podanie antagonisty receptorów GABA<sub>A</sub> (bikukulina) do grzbietowego obszaru podwzgórza zwiększało stężenie



ACTH i kortykosteronu w surowicy badanych zwierząt [33].

Regulacja składu podjednostek i ilości receptorów GABA-ergicznych w PVN i hipokampie może wpływać na oś HPA, a w konsekwencji na wydzielanie glikokortykosteroidów [34]. Wyniki badań przedklinicznych wskazują, że w warunkach przewlekłego stresu zmienia się skład podjednostek receptora GABA – zaobserwowano zmniejszenie syntezy mRNA dla podjednostek  $\beta 1$  i  $\beta 2$  receptora GABA<sub>A</sub> w PVN [34]. Zmiany te są istotne dla regulacji czynności osi HPA, ponieważ podjednostki  $\beta 1-3$  rezydują na neuronach wydzielających CRF [34]. Również w pewnych obszarach hipokampa (CA1, CA3, DG) stwierdzono wzrost ilości poziomu podjednostek  $\beta 2$ . Wyniki badań wskazuje na to, że projekcje z PVN, szczególnie części wielkokomórkowej, wpływają na uwalnianie glikokortykosteroidów w hipokampie [29, 34].

### Wpływ serotoniny na aktywność osi HPA

Serotonina odgrywa ważną rolę w adaptacji organizmu do zmieniających się warunków środowiska. Jej niedobór w ośrodkowym układzie nerwowym wiąże się z występowaniem zaburzeń lękowych, zaburzeń nastroju oraz zaburzeń odżywiania [35]. Wiadomo również, iż układ serotonergiczny bierze udział w kontroli czynności neuroendokrynej o.u.n. [35].

Ciała komórkowe neuronów serotonergicznym zgrupowane są w grzbietowych i przyśrodkowych jądrach szwu [35], położonych w pniu mózgu, skąd wysyłają liczne kolaterale, m. in. do podwzgórza, a także ciała migdałowate i innych struktur układu limbicznego [35]. Dzięki temu układ serotonergiczny może wywierać modulujący wpływ na czynność układów i struktur uczestniczących w odpowiedzi organizmu na stres, w tym osi podwzgórze–przysadka–nadnercza. I tak na przykład, podanie agonistów receptora 5-HT<sub>2A/2C</sub> (DOI) powoduje wzrost stężenia wszystkich hormonów, które można określić mianem „hormonów stresowych”: ACTH, kortykosteronu, oksytocyny, prolak-

tyny i reniny [35]. Stwierdzono również, że ekspozycja zwierząt na warunki stresowe w połączeniu z podaniem DOI zwiększa ekspresję genu c-fos w neuronach jądra przykomorowego podwzgórza produkujących CRF i oksytocynę [35]. W strukturze tej występują również inne receptory serotoninowe, m.in. receptory 5-HT<sub>1A</sub>. Wydaje się, że ich pobudzenie może powodować nasilenie uwalniania ACTH, kortykosteronu i oksytocyny [35].

Zależność między układem serotonergicznym i osią HPA ma charakter dwukierunkowy. Są dowody występowania receptorów dla CRF (CRF<sub>1</sub> i CRF<sub>2</sub>) na ciałach komórkowych neuronów serotonergicznym [35]. Wyniki badań wykazały, że podanie małych dawek CRF bezpośrednio do jąder szwu hamuje aktywność neuronów 5-HT, podczas gdy duże dawki zwiększają ich aktywność [36]. Co ciekawe, u myszy pozbawionych receptora dla CRF<sub>1</sub> (CRF<sub>1</sub> knock-out mice) zaobserwowano zwiększone stężenie serotoniny (badane metodą mikrodializy) w hipokampie zarówno w warunkach podstawowych, jak i stresowych [34].

Istnienie wzajemnych zależności między układem serotonergicznym i osią HPA potwierdzają doświadczenia z zastosowaniem selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI). Badania farmakologiczne wykazały, że SSRI hamują wychwyt zwrotny serotoniny przez zakończenia nerwowe zwiększając tym samym jej stężenie w szelinach synaptycznych. Długotrwałe stosowanie SSRI prowadzi do desensytyzacji autoreceptorów 5-HT<sub>1A</sub> i nasilenia przekąźnictwa 5-HT. Najnowsze badania donoszą o podobnych zmianach wywołanych przez spadek stężenia glikokortykosteroidów [37]. Opisane wyniki sugerują, że zmiany aktywności osi HPA obserwowane w depresji mogą być „naturalną reakcją przeciwdepresyjną” [37].

Serotonina wydzielana w warunkach stresu powoduje atrofię komórek dendrytycznych obszaru CA3 hipokampa. Zjawisko to wynika z desensytyzacji postsynaptycznych receptorów 5-HT<sub>1A</sub>. Podanie tianep-tyny, atypowego leku przeciwdepresyjnego,

wzmagającego wychwyty zwrotny serotoniny zapobiega temu procesowi [9].

### Wpływ neurosteroidów na aktywność osi HPA

Neurosteroidy są endogennymi substancjami biorącymi udział w regulacji wielu procesów neurofizjologicznych. Związki te są bardzo aktywne farmakologicznie, działają na genom komórkowy, wywierają bezpośredni wpływ na receptory błonowe. Regulują czynność receptorów GABA<sub>A</sub>, receptorów glicynowych, cholinergicznym, glutaminergicznym i błonowych kanałów wapniowych [38]. Zauważono, iż w warunkach stresowych stężenie neurosteroidów w o.u.n. ulega zmianie [39], np. wzrasta stężenie progesteronu, allopregnanolonu (pochodna progesteronu) i tetrahydrodeoksykortykosteronu (THDOC) [40, 41]. Dzieje się tak prawdopodobnie na skutek stymulacji syntezy/uwalniania tych substancji przez CRF. Część autorów sugeruje, że zjawisko to ma znaczenie ochronne dla neuronów ośrodkowego układu nerwowego [42]. Wzrost stężenia neurosteroidów aktywuje receptory GABA<sub>A</sub>, które zmniejszają sekrecję CRF [40]. Dlatego uważa się, że neurosteroidy (THP i THDOC) mogą hamować wydzielanie CRF i ACTH za pomocą receptorów GABA<sub>A</sub> znajdujących się w podwzgórze [40].

Podobnie, neurosteroidy regulują czynność osi podwzgórze–przysadka–nadnercza [39]. THDOC może łagodzić behawioralne i endokrynne zmiany wywołane stresem przeżyтым w dzieciństwie (np. model izolacji oseków szczerzych od matki), tj. wzrost lęku, nadmierna sekrecja ACTH, wzrost sprzężenia zwrotnego glikokortykosteroidów i zmiana transkrypcji genów kodujących CRF w podwzgórze i receptorów glikokortykoidowych w hipokampie [43]. Allopregnanolon może również wyciszać endokrynną odpowiedź organizmu na stres poprzez wpływ na stężenie ACTH i kortykosteronu czy zmniejszenie stężenia wazopresyny w jądrze przykomorowym podwzgórze [39]. Ponadto stosowanie wysokich dawek allopregnanolonu

znacznie redukuje poziom CRF i wykazuje działanie przeciwlękowe [42].

### PODSUMOWANIE

Oś podwzgórze–przysadka–nadnercza odgrywa istotną rolę w procesach adaptacji i reakcji organizmu na sytuację stresową. Aktywność osi HPA jest modyfikowana przez liczne układy neuroprzekazników, m.in.: serotonergicznym, GABA-ergicznym i glutaminergicznym. Hormony uwalniane przez oś HPA wpływają na szereg procesów metabolicznych, np. glikokortykosteroidy wzmagają wykorzystanie substratów energetycznych i przywracają reaktywność naczyń [5]. W warunkach przewlekłego stresu dochodzi do zaburzenia aktywności osi HPA i nadmiernej sekrecji hormonów steroidowych. Nieprawidłowe funkcjonowanie układu podwzgórze–przysadka–nadnercza może być przyczyną występowania wielu schorzeń, m.in.: depresji, zespołu Cushinga, PTSD, zespołu chronicznego zmęczenia [4, 44]. Dlatego też szczególną rolę przypisuje się wyjaśnieniu mechanizmu działania czynników regulujących oś HPA. Przedstawione informacje wskazują, że najbardziej ciekawie rysują się perspektywy zastosowania klinicznego antagonistów receptora CRF<sub>1</sub>, które mogą stanowić nową grupę leków przeciwdepresyjnych i przeciwlękowych [16].

### PIŚMIENNICTWO

1. Werka T. Stres i ból. W: Górska T, Grabowska A, Zagrodzka J, red. Mózg a zachowanie. Warszawa: PWN; 1997: 252–68.
2. von Borell EH. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J Anim Sci* 2001; 79 (supl): 260–7.
3. Rybakowski J. Etiologia i patogeniza zaburzeń psychicznych. W: Bilikiewicz A, red. Psychiatria. Warszawa: PZWL; 1998: 40–6.
4. Spencer RL, Hutchison KE. Alcohol, aging and the stress response. *Alcohol Res Health* 1999; 23 (4): 272–83.

5. Ganong WF. Fiziologia. Podstawy fizjologii lekarskiej. Warszawa: PZWL; 1994: 435–66.
6. Keeney AJ, Hogg S, Marsden CA. Alterations in core body temperature, locomotor activity, and corticosterone following acute and repeated social defeat of male NMRI mice. *Physiol Behav* 2001; 74 (1–2): 177–84.
7. De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 1998; 19 (3): 269–301.
8. Korte SM. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25 (2): 117–42.
9. McEwen BS. Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry* 2000; 48 (8): 721–31.
10. Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57 (10): 925–50.
11. Arborelius L, Owens MJ, Plotsky PM, Nemeroff CB. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *J Endocrinol* 1999; 160 (1): 1–12.
12. Okuyama S, Chaki S, Kawashima N, Suzuki Y, Ogawa S, Nakazato A, Kumagai T, Okubo T, Tomisawa K. Receptor binding, behavioral, and electrophysiological profiles of nonpeptide corticotropin-releasing factor subtype 1 receptor antagonists CRA1000 and CRA 1001. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289 (2): 926–35.
13. Takahashi LK. Role of CRF<sub>1</sub> and CRF<sub>2</sub> receptors in fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 2001; 25 (7–8): 627–36.
14. Grigoriadis DE, Haddach M, Ling N, Saunders J. The CRF receptor: structure, function and potential for therapeutic intervention. *Current Med Chem – CNS System Agents* 2001; 1: 63–97.
15. Dautzenberg FM, Hauger RL. The CRF peptide family and their receptors: yet more partners discovered. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23 (2): 71–7.
16. Arborelius L, Skelton KH, Thirivikraman KV, Plotsky PM, Schulz DW, Owens MJ. Chronic administration of the selective corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonist CP-154,526: behavioral, endocrine and neurochemical effects in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 294 (2): 588–97.
17. McQuade R, Young AH. Future therapeutic targets in mood disorders: the glucocorticoid receptor. *Br J Psychiatry* 2000; 177: 390–5.
18. Rinne T, de Kloet ER, Wouters L, Goekoop JG, de Rijk RH, van den Brink W. Hyperresponsiveness of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone challenge in female borderline personality disorder subjects with a history of sustained childhood abuse. *Biol Psychiatry* 2002; 52 (11): 1102–12.
19. Yehuda R. Biology of posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry* 2001; 62 (supl): 41–6.
20. Kanter ED, Wilkinson CW, Radant AD, Petrie EC, Dobie DJ, McFall ME, Peskind ER, Raskind MA. Glucocorticoid feedback sensitivity and adrenocortical responsiveness in post-traumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2001; 50 (4): 238–45.
21. Gotthardt U, Schweiger U, Fahrenberg J, Lauer CJ, Holsboer F, Heuser I. Cortisol, ACTH, and cardiovascular response to a cognitive challenge paradigm in aging and depression. *Am J Physiol* 1995; 268: 865–73.
22. Lindheim SR, Legro RS, Bernstein L, Stanczyk FZ, Vijod MA, Presser SC, Lobo RA. Behavioral stress responses in premenopausal and postmenopausal women and the effects of estrogen. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 156 (6): 1387–91.
23. Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, Kirschbaum C. HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoendocrinol* 2004; 29 (1): 83–98.
24. Lehner M, Wisłowska A, Taracha E, Zienowicz M, Płaźnik A. Zastosowanie mapowania białka c-Fos w neuropsychofarmakologii. *Post Psychiatr Neurol* 2003; 12 (3): 335–45.
25. Chowdhury GM, Fujioka T, Nakamura S. Induction and adaptation of Fos expression in the rat brain by two types of acute restraint stress. *Brain Res Bull* 2000; 52 (3): 171–82.
26. Wiedenmayer CP, Barr GA. Developmental changes in c-fos expression to an age specific social stressor in infant rats. *Behav Brain Res* 2001; 126 (1–2): 147–57.
27. Kabbaj M, Akil H. Individual differences in novelty-seeking behavior in rats: a c-fos study. *Neuroscience* 2001; 106 (3): 535–45.
28. Mercier S, Canini F, Buguet A, Cespuoglio R, Martin S, Bourdon L. Behavioural changes after an acute stress: stressor and test types influences. *Behav Brain Res* 2003; 139 (1–2): 167–75.

29. Herman JP, Tasker JG, Ziegler DR, Cullinan WE. Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration Glutamate-GABA connections. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 71 (3): 457–68.
30. Scaccianoce S, Matrisciano F, Del Bianco P, Caricasole A, Di Giorgi Gerevini V, Cappuccio I, Melchiorri D, Battaglia G, Nicoletti F. Endogenous activation of group-II metabotropic glutamate receptors inhibits the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Neuropharmacol* 2003; 44 (5): 555–61.
31. Nair SM, Werkman TR, Craig J, Finnell R, Joels M, Eberwine JH. Corticosteroid regulation of ion channel conductances and mRNA levels in individual hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 1998; 18 (7): 2685–96.
32. Bradbury MJ, Giracello DR, Chapman DF, Holtz G, Schaffhauser H, Rao SP, Varney MA, Anderson JJ. Metabotropic glutamate receptor 5 antagonist-induced stimulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: interaction with serotonergic systems. *Neuropharmacol* 2003; 44 (5): 562–72.
33. Hodge CW, Raber J, McMahon T, Walter H, Sanchez-Perez AM, Olive MF, Mehmert K, Morrow AL, Messing RO. Decreased anxiety-like behavior, reduced stress hormones, and neurosteroid supersensitivity in mice lacking protein kinase. *J Clin Invest* 2002; 110 (7): 1003–10.
34. Cullinan WE, Wolfe TJ. Chronic stress regulates levels of mRNA transcripts encoding  $\beta$  subunits of the GABA<sub>A</sub> receptor in the rat stress axis. *Brain Res* 2000; 887 (1): 118–24.
35. Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 2003; 463 (1–3): 235–72.
36. Penalva RG, Flachskamm C, Zimmermann S, Wurst W, Holsboer F, Reul JM, Linthorst AC. Corticotropin-releasing receptor type 1 – deficiency enhances hippocampal serotonergic neurotransmission: an *in vivo* microdialysis study in mutant mice. *Neuroscience* 2002; 109 (2): 253–6.
37. Gartside SE, Leitch MM, Young AH. Altered glucocorticoid rhythm attenuates the ability of a chronic SSRI to elevate forebrain 5-HT: Implications for the treatment of depression. *Neuropsychopharmacol* 2003; 28 (9): 1572–8.
38. Członkowska AI, Zienowicz M, Płaźnik A. Mechanizmy działania inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny (SSRI) a neurosteroidy – nowe możliwości zastosowań w psychiatrii i neurologii. *Farmacja Polska* 2003; 12: 535–41.
39. Mellon S, Griffin LD. Neurosteroids: biochemistry and clinical significance. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13 (1): 35–43.
40. Dubrovsky B. The specificity of stress responses to different nocuous stimuli: neurosteroids and depression. *Brain Res Bull* 2000; 51 (6): 443–55.
41. Reddy DS. Is there a physiological role for the neurosteroid THDOC in stress-sensitive conditions? *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24 (3): 103–6.
42. Bernardi F, Lanzone A, Cento RM, Spada RS, Pezzani I, Genazzani AD, Luisi S, Luisi M, Petraglia F, Genazzani AR. Allopregnanolone and dehydroepiandrosterone response to corticotropin-releasing factor in patients suffering from Alzheimer's disease and vascular dementia. *Eur J Endocrinol* 2000; 142 (5): 466–71.
43. Patchev VK, Montkowski A, Rouskova D, Koranyi L, Holsboer F, Almeida OF. Neonatal treatment of rats with the neuractive steroid tetrahydrodeoxycorticosterone (THDOC) abolishes the behavioral and neuroendocrine consequences of adverse early life events. *J Clin Invest* 1997; 99 (5): 962–6.
44. Raber J, Akana SF, Bhatnagar S, Dallman M, Wong D, Mucke L. Hypothalamic-pituitary-adrenal dysfunction in Apoe (–/–) mice: possible role in behavioral and metabolic alterations. *J Neurosci* 2000; 20 (5): 2064–71.

*Adres: Prof. Adam Płaźnik, Zakład Neurochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii, ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa, e-mail: adaplaz@yahoo.com*