

## Badania doświadczalne nad otępieniem: rola neuroprzekazników

ADAM PŁAŻNIK, WOJCIECH DANYSZ

Z Zakładu Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPIŃ w Warszawie

Wykład poświęcono omówieniu roli neuroprzekazników w uczeniu się i funkcjonowaniu różnych rodzajów pamięci oraz znaczeniu zaburzeń w zakresie tych neurotransmiterów w różnych typach otępienia. Zwrócono uwagę na perspektywę przewlekłego stosowania profilaktycznego w przyszłości leków działających na układ aminokwasów pobudzających (red.).

Słowa kluczowe: otępienia - neuroprzekazniki - patogeneza

### MODELE UCZENIA I PAMIĘCI

Z punktu widzenia badań doświadczalnych można wyróżnić kilka rodzajów pamięci. 1) *Pamięć sensoryczna* charakteryzuje się krótkim okresem (zwykle poniżej 1 s.) trwania, na przykład w receptorze wzrokowym. Bada się ją przez rozpoznawanie pokazywanego tekstu lub rysunku. 2) *Pamięć krótkotrwała* (na przykład wykręcanego numeru telefonu, planu dnia). Ten typ pamięci bada się metodą reakcji odroczonej. Polegają one na rozpoznawaniu w różnych odstępach czasu miejsca ukrycia jakiegoś przedmiotu lub pokarmu (w przypadku badania na zwierzętach), po uprzedniej demonstracji tego miejsca. Reakcje odroczone są szczególnie mocno zaburzane na skutek uszkodzeń hipokampów. Wykazano na przykład, że obustronne uszkodzenie tych struktur u kotów skraca czas zapamiętania lokalizacji karmnika z 3 min. do około 10 s. 3) *Pamięć długotrwała*. Uważa się, że ten typ pamięci mogący trwać dni i tygodnie, jest związany ze zmianami w strukturze neuronów i tworzeniem engramów pamięci, być może o budowie białkowej. 4) *Pamięć permanentna*, trwa całe życie, jest również powiązana ze zmianą liczby synaps nerwowych, nasileniem syntezy odpowiednich białek, w strukturach mózgu odpowiedzialnych za procesy gromadzenia informacji.

Z punktu widzenia badań przedklinicznych można wyróżnić dwa rodzaje modeli uczenia. *Modele behawioralne* oparte są na klasycznych

i instrumentalnych odruchach warunkowych. Klasyczne odruchy mogą mieć z kolei charakter bezwarunkowy (wrodzony) lub warunkowy, czyli nabyty (na przykład opisane przez Pawłowa chemiczne wydzielania śliny). Warunkowanie instrumentalne polega na wzmacnianiu wykonanej reakcji przez jej nagrodzenie lub uniknięcie kary. Różnica między obydwojema rodzajami odruchów warunkowych polega na tym, że podczas warunkowania instrumentalnego wzmacnia się reakcję zwierzęcia, a w przypadku odruchów klasycznych, bodziec warunkowy (np. dzwonek sygnalizujący pokarm). Z kolei najbardziej znanym modelem elektrofizjologicznym uczenia i pamięci jest zjawisko tzw. długotrwałej potencjalizacji (long term potentiation, LTP) odpowiedzi bioelektrycznej neuronów hipokampa na drażnienie dróg aferentnych do tej struktury mózgu. LTP obserwuje się w wielu strukturach mózgu, a najczęściej bada w synapsach hipokampalnych utworzonych przez dendryty warstwy ziarnistej zakrętu zębatego. Drażnienie drogi dziurkowanej tzn. włókien wywodzących się z kory węchowej, nasila reakcje elektrofizjologiczne (postsynaptyczny potencjał pobudzający, EPSP) komórek warstwy ziarnistej. To nasilenie reakcji mierzone amplitudą wyładowań neuronów trwa tygodnie. Warunkiem powstania LTP jest zastosowanie drażeń tetanicznych (tetanicznych) włókien aferentnych (prąd stymulujący o 10 do 20 % wyższy od wywołującego wyładowanie depolaryzacyjne neu-

ronów hipokampa). Mechanizm tego zjawiska nie jest do końca poznany, niemniej jednak wydaje się być związany z nasileniem transmisji synaptycznej, prowadząc w efekcie do trwałych zmian w strukturze synaps.

## **ROLA SUBSTANCJI NEUROPRZEKAŹNIKOWYCH**

Wymienione powyżej modele wykorzystuje się w badaniach roli unerwienia neuroprzebieżnikowego mózgu w procesach uczenia i pamięci, oraz w badaniu leków. Okazało się, że wiele systemów neuroprzebieżnikowych bardzo silnie wpływa na procesy pamięci i uczenia. Na przykład podanie zwierzętom eksperymentalnym neurotoksyny niszczącej selektywnie neurony noradrenergiczne w mózgu prowadzi do znacznego skrócenia czasu trwania zjawiska LTP. Z kolei antagoniści układu GABAergicznego, np. pikrotoksyna, ułatwiają wywołanie długotrwałej potencjalizacji, podobnie jak selektywne uszkodzenia neuronów serotonergicznym. Dane te wskazują na istotną rolę układu noradrenergicznego w pobudzaniu procesów uczenia i pamięci. Natomiast neurony serotonergiczne i GABAergiczne mają prawdopodobnie wpływ hamujący. Zgodnie z tą koncepcją, w badaniach behawioralnych okazało się, że uszkodzenie neuronów noradrenergicznych w jądrze miejsca sinawego (*locus coeruleus*) (jest to źródło mózgowej noradrenaliny) bardzo silnie hamowało nabywanie reakcji aktywnego unikania przez szczury, oraz ułatwiało zapominanie tej reakcji. Najwięcej jednak danych tradycyjnie wiąże procesy zapamiętywania z układem cholinergicznym mózgu.

## **ROLA NEURONÓW CHOLINERGICZNYCH**

Układ cholinergiczny mózgu unerwia większość struktur, a w szczególności dużej koncentracji znajduje się w jądrach limbicznych (na przykład hipokampach, jądrach przegrody, jądrach migdałowatych, itp.). Występuje pod postacią licznych inter-neuronów zakończonych krótkimi odgałęzieniami aksonalnymi. Nie tworzy więc długich szlaków nerwowych, z nielicznymi

wyjątkami. Należą do nich drogi neuronalne wychodzące z jąder Meynerta (*nucleus basalis Meynerti*, NBM, odpowiednik *nucleus basalis magnocellularis* u gryzoni), oraz z inter-neuronów cholinergicznym w jądrach przegrody. Włókna wstępujące z przegrody stanowią główne unerwienie cholinergiczne hipokampów, a wychodzące z jądra Meynerta kory mózgu. Acetylocholina wydzielana w tych strukturach działa poprzez receptory muskarynowe pobudzająco na neurony, zwiększa iskrzenie (*firing*) neuronów, nasila również działanie depolaryzujące wywołane drażnieniem włókien aferentnych, oraz wywołuje długotrwałe ułatwienie iskrzenia, w tym związane ze zjawiskiem LTP. Wiele faktów eksperymentalnych wiąże aktywność tego układu neuroprzebieżnikowego z zaburzeniami pamięci, występujących w stanach patologii ośrodkowej, w tym w chorobie Alzheimera. Antagoniści receptorowi układu cholinergicznego wywołują niepamięć wsteczną, blokowaną z kolei przez agonistę cholinergicznego fizostygminy. Podobne zaburzenia dają selektywne lezje neuronów jądra NBM. Uszkodzenie drogi septalno-hipokampalnej powoduje bardzo silne zaburzenia uczenia i pamięci u zwierząt eksperymentalnych. Ten deficyt jest całkowicie znoszony po przeszczepieniu do uszkodzonych hipokampów embrionalnych jąder przegrody. Wykazano, że przeszczepy przejmują zarówno czynność bioelektryczną, jak behawioralną uszkodzonych struktur, zmniejszając w efekcie pogorszenie uczenia i pamięci po lezji. Również wiele badań klinicznych wskazuje na związki chorób otepiennych, zwłaszcza typu Alzheimera, ze zmianami w czynności układu cholinergicznego mózgu. Wraz z wiekiem rośnie wrażliwość na amnestyczne działanie skopolaminy i innych środków o działaniu cholinolitycznym. Niektórzy badacze obserwowali korelację pomiędzy stopniem otepienia i uszkodzeniem mózgu w części cholinergicznym; dotyczyło to spadku aktywności enzymów tego układu i zmniejszenia liczby miejsc specyficznego wychwyty choliny, przy niezmienionej liczbie receptorów muskarynowych. W chorobie Alzheimera występują głębokie zmiany degenera-

cyjne w wielu jądrach pnia i podstawy mózgu, w tym w jądrze Meynerta, jądrach przegrody, a także w neuronach dających początek drodze dziurkowanej i w neuronach zakrętu zębatego hipokampa. Opisane procesy degeneracyjne prowadzą w konsekwencji do przerwania połączeń między korą mózgu a hipokampami. Stan ten wydaje się być bezpośrednią przyczyną zaburzeń gromadzenia danych, a tym samym pamięci. Natomiast wyniki z podawaniem agonistów receptorowych układu cholinergicznego lub prekursorów choline w demencjach są niejednoznaczne. Część badaczy obserwowała lekką poprawę pamięci po zastosowaniu fizostygminy, arekoliny lub pilokarpiny, tzn. agonistów układu cholinergicznego. Leki te są jednak zwykle źle tolerowane i wywierają liczne efekty niepożądane, np. THA (1,2,3,4-tetro-hydro-5-aminoakrydyna) działa do pewnego stopnia hepatotoksycznie. W ciągu ostatnich kilku lat szybko rośnie duża ilość informacji wiążących patologię procesów uczenia i pamięci z zaburzeniami czynności innego jeszcze systemu neuro-przekaznikowego, związanego z aminokwasami pobudzającymi.

#### AMINOKWASY POBUDZAJĄCE

W ośrodkowym układzie nerwowym systemy aminokwasowe można podzielić, stosując kryterium elektrofizjologiczne, na hamujące i pobudzające. Do pierwszej grupy należy kwas gamma-aminomasłowy (GABA), glicyna i prawdopodobnie tauryna. Do grupy drugiej zaliczamy kwas glutaminowy i kwas asparaginowy (NMDA). Kwas glutaminowy występuje w mózgu w stężeniach około 1000 razy wyższych niż tzw. klasyczne neuroprzekazniki, jak np. nora-drenalina. Wydaje się, że równowaga między wpływami pobudzającego systemu glutaminergicznego i hamującego GABA-ergicznego może być kluczowym elementem w kontroli wielu funkcji mózgu. Badania nad rolą fizjologiczną receptorów glutaminergicznych na szeroką skalę rozpoczęły się dopiero niedawno. Najlepiej poznano funkcje receptorów NMDA, którego agonistą jest N-metyl- D-asparaginian, ze względu na dostępność substancji antagonisty-

cznych. Na podstawie badań sugeruje się, że receptory NMDA mogą mieć istotne znaczenie w odbieraniu bodźców czuciowych (pierwotne neurony czuciowe są to neurony glutaminergiczne), reakcji wzbudzenia, w kontroli ciśnienia krwi i rytmu oddechowego, w regulacji napięcia mięśniowego, w reakcjach lękowych, oraz w procesach uczenia i pamięci. Nadmierna aktywacja receptorów glutaminergicznych prowadzi może z kolei do uszkodzenia neuronów i wynikających stąd zmian patologicznych w mózgu. Dotyczy to szczególnie stanu hipoksji, hipoglikemii i ischemii mózgu. Stwierdzono, że w opisywanych sytuacjach patologicznych dochodzi do znacznego podwyższenia stężenia kwasu glutaminowego w mózgu. Aminokwas ten działając z kolei na receptory NMDA powoduje uszkodzenie i śmierć neuronów, w wyniku napływu znacznych ilości wapnia do wnętrza neuronów i uruchomienia w ten sposób procesów komórkowych prowadzących do rozprzężenia funkcji neuronu i jego śmierci. Obserwacja ta nasuwa wniosek, że zmiany patologiczne obserwowane w przebiegu ischemii, hipoglikemii lub hipoksji powinny być znacznie wyraźniejsze w tych częściach mózgu, które mają bogate unerwienie glutaminergiczne. W zgodzie z tą hipotezą stwierdzono, że uszkodzeniu ulegają bogate w receptory NMDA neurony rejonu CA1 hipokampa, ale nie rejonu CA3, gdzie tych receptorów jest znacznie mniej. Ponadto uszkodzenia wywołane egzogennym kwasem glutaminowym są identyczne z patologicznymi zmianami obserwowanymi w doświadczalnych modelach ischemii. Tak więc zastosowanie leków działających na układ glutaminergiczny mogłoby stworzyć szansę nowej jakościowo terapii wielu zaburzeń neurologicznych i psychicznych.

#### CHOROBA ALZHEIMERA

##### A AMINOKWASY POBUDZAJĄCE

Neuronalny model pamięci, jakim jest długotrwała potencjalizacja (LTP), jest procesem wynikającym ze wzrostu reaktywności określonych połączeń neuronalnych, w wyniku powtarzającej się aktywacji prądem o określonej częstotliwości. Proces ten jest w znacznym stopniu

związany z receptorami glutaminergicznymi, przede wszystkim typu NMDA. Wiele form uczenia jest zaburzonych po podaniu antagonistów receptora NMDA. Wskazuje to na istotną rolę receptorów NMDA w procesie tworzenia śladu pamięciowego, co może z kolei sugerować ich rolę w schorzeniach objawiających się zaburzeniami pamięci. Początkowo badania autopsyjne pacjentów z chorobą Alzheimera wykazały spadek ilości receptorów NMDA w różnych częściach mózgu. Biorąc pod uwagę istotną rolę tych receptorów w procesach pamięciowych sugerowano, że amnezja obserwowana w tym schorzeniu może wynikać ze spadku ilości receptorów NMDA. Późniejsze badania wykazały jednak, że spadek liczby receptorów NMDA występuje w późnym stadium choroby i jest wyrazem degeneracji neuronów zawierających te receptory. Jest on prawdopodobnie przyczyną zaburzeń w funkcjonowaniu systemu glutaminergicznego. Niektórzy badacze sugerowali z kolei osłabienie pozytywnego, modulującego działania glicyny na receptory NMDA w chorobie Alzheimera, co mogłoby się przejawiać upośledzeniem zapamiętywania. Tak więc, jeśli potwierdzi się hipoteza, że zmiany degeneracyjne w chorobie Alzheimera wynikają z neurotoksy-

cznego działania receptorów NMDA, to zastosowanie antagonistów może być korzystne terapeutycznie. Jeżeli natomiast w niektórych stadiach choroby zaburzona jest regulacja przez glicynę, zastosowanie agonistów miejsca glicynowego (pozytywnie modulującego czynność receptora NMDA) powinno wywierać korzystny wpływ terapeutyczny. W zgodzie z tą koncepcją wykazano doświadczalnie, że aktywacja miejsca glicynowego może przyspieszać proces uczenia u szczurów. Problem ten wymaga jednak dalszych badań.

Podsumowując należy podkreślić, że w najbliższym czasie należy oczekiwać pierwszych zastosowań klinicznych leków działających na receptory glutamatergiczne. Staje się to pilne w świetle mało satysfakcjonujących wyników osiągniętych z lekami wpływającymi na aktywność układu cholinergicznego. Najbardziej obiecująco wyglądają próby profilaktycznego stosowania leków działających na układ aminokwasów pobudzających. Dalszy postęp w tym zakresie będzie jednak możliwy po otrzymaniu kolejnych leków działających bardziej selektywnie na podtypy receptorów aminokwasowych, oraz pozbawionych licznych nieestety efektów niepożądanych.

*Adres: Doc. Adam Płaźnik, Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPiN,  
Al.Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa.*