

# Factorii neurotrofici în tulburările afective

Conf. Univ. Dr. Romoșan Felicia  
Prep. Univ. Dr. Romoșan Radu

- În ultimele decade atenția cercetătorilor a fost îndreptată mai ales asupra rolului disfuncțiilor în neuroplasticitate, reziliență, supraviețuire și apoptoză celulară în patofiziologia tulburărilor afective. Au fost descrise scăderi ale nivelului periferic al factorilor neurotrofici (BDNF și Bcl-2) și disfuncții ale căii Wnt-GSK-3 $\beta$  și ale interrelațiilor acestora cu modulatorii inflamației și a markerilor stresului oxidativ. Disfuncții ale interrelațiilor complexe existente între aceste sisteme și mecanisme intracelulare pot dezechilibra balanța supraviețuire / apoptoză celulară și să explice modificări de volum ale creierului în anumite regiuni, evidențiate de explorarea neuroimagistică.

## Introducere

- S-a dovedit că stabilizatorii afectivi acționează pe multe dintre aceste sisteme intracelulare și declanșează evenimentele cascadelor intracelulare care pot altera sinteza de proteine, să producă efecte reparatorii în plasticitatea sinaptică și să restaureze neurotransmisia. Tratamentul optimal, pe termen lung, reprezintă o tentativă de a preveni disfuncțiile celulare și progresia bolii, pentru această fiind necesare noi strategii farmacologice care să crească plasticitatea celulară.

## Introducere

- Neuronii au un sistem de semnalizare  $Ca^{2+}$  înalt dezvoltat, care este responsabil de reglarea a numeroase funcții neuronale. Prin acțiunea pe care ionii de Ca o au asupra proteinelor celulare ca: MARCKS, calmodulin și a enzimelor PKA, PKC, CaM Kinase (calmodulin kinaza) sunt reglate sinteza și eliberarea neurotransmițătorilor, excitabilitatea neuronală, metabolismul energetic, remodelarea citoscheletului, plasticitatea sinaptică, supraviețuirea și moartea celulară. Numeroase studii au evaluat nivelul  $Ca^{2+}$  în celulele sanguine periferice (limfocite, trombocite, neutrofile) la subiecții cu TAB și au raportat un nivel crescut al calciului atât bazal cât și după stimulare.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Emamghoreishi și colab. (2000) au găsit în limfoblaștii subiecților bipolari cu nivel bazal crescut de  $Ca^{2+}$ , o producție scăzută a cAMP, după stimularea receptorilor  $\beta$ -adrenergici cu izoproterenol și o activitate înaltă a enzimei AC. Coroborând aceste date cu activitatea PG crescută, autorii au sugerat că disfuncția unei căi de transmisie poate induce alterări adaptative ale altei căi de semnalizare. Nivelele crescute de  $Ca^{2+}$  intracelular la subiecții cu TAB au fost interpretate de unii autori ca fiind determinante ale unei vulnerabilități crescute la injurii sau ale deteriorării rezilienței celulare (abilitatea celulelor de a se adapta la injurii și de a-și menține forma și funcția). Anormalitățile metabolismului calcic intracelular se consideră a fi rezultatul unor disfuncții atât la nivelul ER cât și al mitocondriilor.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Mitocondria este un organit intracelular cu rol important în reglarea producerii de energie, via fosforilare oxidativă, reglarea calciului intracelular și medierea apoptozei. Konradi C și colab. (2004) au evidențiat într-un studiu post-mortem, efectuat pe creierul subiecților cu TAB, existența unor procese disfuncționale mitocondriale. Autorii au găsit că mARN nuclear, care codează proteinele mitocondriale a fost scăzut la subiecții bipolari comparativ cu subiecții cu schizofrenie și cu subiecți sănătoși. Aceste date susțin implicarea expresiei genelor care reglează fosforilarea oxidativă în membrana mitocondrială și procesul ATP-dependent de degradare a proteosomului.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Disfuncția mitocondriei în TAB implică probabil deteriorarea fosforilării oxidative ca rezultat al shift-ului spre producția de energie prin glicoliza, o descreștere a energiei totale și/sau a disponibilului de substrat și metabolism al fosfolipidelor alterat. Anormalitățile metabolismului calciului intracelular au fost asociate cu disfuncții atât la nivelul RE cât și în activitatea mitocondriilor, ambele organite celulare interacționând direct cu proteina Bcl-2 care are rol cheie în reglarea semnalizării intracelulare  $Ca^{2+}$ .

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Proteina Bcl-2 are proprietăți antiapoptoice și neuroprotective, reglează procese neurobiologice diverse cum ar fi neurogeneza, morfogeneza și plasticitatea sinaptică. Kim și colab. (2010) au găsit în cortexul frontal al pacienților cu TAB nivele scăzute ale proteinei Bcl-2 și a mesagerului mRNA (studiu-postmortem). Modelele paraclinice au demonstrat o creștere a activității Bcl-2 în girusul dentat și hipocamp după tratamentul cu litiu (4 săptămâni). Alți autori au raportat o creștere a nivelului Bcl-2 după administrare de litiu în culturi de celule din cortexul frontal, hipocamp și corpii striați, atât la rozatoare cât și pe culturi de celule umane in vitro. La nivel celular Bcl-2 controlează dinamica calciului prin interacțiune directă pe ținte citozolice (mitocondrie și RE).

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- La nivel ER, Bcl-2 interacționează cu receptorii inozitol-1,4,5-trifosfat (InsP3R) și cu canalele de calciu, scăzând eliberarea de calciu din ER sau indirect stimulând influxul de calciu în ER. De asemenea stabilizează integritatea membranei mitocondriale, limitând eliberarea de citocrom C care activează calea apoptotică. Date recente sugerează că Bcl-2 suprimă eliberarea de calciu mediată de InsP3R. Aceste date susțin ideea că expresia Bcl-2 poate fi implicată în anormalitățile metabolismului calciului intracelular găsite la subiecții cu TAB. Această ipoteză este susținută de observația că tratamentul cronic cu litiu atenuează mobilizarea calciului în limfoblaștii subiecților bipolari, efect asociat cu depleția de inozitol și creșterea activității Bcl-2 și RE-chaperone.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Machado-Vieira și colab. (2010) au examinat pe limfoblaștii de cultură rolul potențial al Bcl-2SNP (Single Nucleotid Polymorphism) rs956572 în dinamica calciului la purtători umani ale alelei A și G la subiecții cu TAB. Studiul a indicat că directa interacțiune Bcl-2 /InsP3R reduce permeabilitatea canalelor de calciu al RE, atenuând astfel nivelul citozolic al calciului ionic.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- De asemenea studiile au demonstrat la pacienții cu TAB că expresia anormală a genei Bcl-2 în variantele AA contribuie la homeostazia disfuncțională a calciului prin mecanisme dependente de receptorul RE-inozitol-1,4,5-trifosfat. Faptul că a fost raportat și de alți autori un genotip similar și în varianta GG pentru dereglarea calciului face ca polimorfismul rs956572 să nu poată fi considerat specific pentru TAB dar în opinia autorilor Bcl-2SNP poate juca un oarecare rol în patofiziologia TAB. Modificările în expresia diverselor gene mitocondriale/RE și de plasticitate, reglate de calciu și Bcl-2 s-a demonstrat că afectează semnificativ viabilitatea celulară iar litiu se pare că are efect neuroprotector.

**ANORMALITĂȚI ÎN METABOLISMUL CALCIULUI INTRACELULAR**

- Factorii neurotrofici (BDNF, neurotrofinele 4 și 5, proteinele Bcl-2) mențin supraviețuirea celulară prin asigurarea aportului trofic și prin efectele inhibitorii pe care le au asupra unor enzime și molecule intracelulare care intermediază apoptoza.

**CASCADELE DE SEMNALIZARE NEUROTROFICE**

- BDNF este cel mai bine studiat dintre factorii neurotrofici și ca urmare a funcției lui este considerat un candidat plauzibil implicat în patofiziologia TAB. Acțiunea celulară a BDNF este mediată de receptori cu înaltă afinitate pentru tirozin-kinază (TrK- $\beta$ ). Legarea BDNF de receptorii TrK- $\beta$  inițiază dimerizarea și autofosforilarea acestora, urmată de formarea în citoplasmă a unor rezidii de tirozină, care vor activa căile de semnalizare Ras/MAPK (mytogen activated protein kinase), PI3-kinase (phosphoinositide-3-kinase) și PLC.

**BDNF**

- Tirozinele fosforilate în asociere cu proteine adaptor activează proteina G mică (Ras), care inițiază fosforilarea subsecventă a kinazelor Raf (kinaza serin-treonina), MAPK, ERK (Extracellular receptor coupled kinase) și RSK (Ribosomal S6 Kinase). Calea MAPK-RSK influențează supraviețuirea celulară pe două căi: prin activarea factorului de transcripție CREB (situat în nucleu) este facilitată transcripția unor gene care induc sinteza celor mai importante neurotrofine cum sunt Bcl-2 și BDNF, iar pe a doua cale inhibă proteina BAD (Bcl-2 Associated Death Promoter) care are funcție pro-apoptică.

**BDNF**

- Calea de semnalizare TrK- $\beta$ -PY3 Kinase este activată fie via proteina Ras fie prin activarea unor proteine adaptoare și are ca țintă directă Akt. Prin defosforilare, Akt inactivează proteina pro-apoptoică BAD și enzimele pro-apoptoice Caspase-9 și GSK-3 $\beta$  (Glycogen Synthase Kinase-3). Studiile care au evaluat nivelele serice și plasmatică ale BDNF au raportat valori mai scăzute comparativ cu subiecții normali, atât la pacienții bipolari, cât și la subiecții cu tulburare depresivă recurentă (TDR). În contextul acestor date, ca urmare a funcțiilor lui, BDNF poate fi implicat ca bio-marker în patofiziologia tulburărilor afective.

**BDNF**

- GSK-3 $\beta$  este o kinază de tip serin-treonina, cu rol important în metabolismul glucozei, în modularea căilor de semnalizare intracelulară, inclusiv în multiplicarea celulară, expresia genică și în apoptoză. Printre activitățile enzimei mai trebuie amintite și modularea proteinelor asociate microtubulilor citoscheletului cum sunt proteinele tau, MAP-1 $\beta$  și MAP-2. Fosforilarea de către GSK-3 $\beta$  a proteinelor tau, MAP-1 $\beta$  și MAP-2 determină destabilizarea sau pierderea conformației microtubulilor.

**GSK-3 $\beta$**

- GSK-3 $\beta$  facilitează apoptoza prin efectul inhibitor pe care îl are asupra proteinelor care promovează supraviețuirea celulară, cum sunt CREB și Bcl-2. Reglarea activității GSK-3 $\beta$  se realizează pe mai multe căi, astfel enzimele PKA și PKC și proteinele Act și Bcl-2 descresc activitatea GSK-3 $\beta$ , iar  $\text{Ca}^{2+}$  și glutamatul cresc activitatea acesteia. Studiile pe modele animale au raportat că augmentarea activității GSK-3 $\beta$  în țesutul cerebral a determinat comportamente atât de tip depresiv cât și de tip maniacal, care au fost apoi controlate prin administrare de inhibitori ai acestei enzime.

**GSK-3 $\beta$**

- Studii farmacologice efectuate pe țesut cerebral animal și pe limfocite umane au arătat că litiul, valproatul, antidepressivele, antipsihoticele atipice au efect inhibitor asupra GSK-3 $\beta$ . Polter și colab. (2010) au găsit la subiecții bipolari expresia GSK-3 $\beta$  trombocitară semnificativ mai redusă față de subiecții cu TDR și subiecții martor. Rămâne însă să fie demonstrat dacă în patofiziologia TAB este implicată disfuncția GSK-3 $\beta$  însăși sau a altor molecule de semnalizare reglate de GSK-3 $\beta$ .

**GSK-3 $\beta$**

- Clasa proteinelor Wnt (Drosophila wingless) activează căile de semnalizare prin care sunt controlate procesele dezvoltamentale, iar la adult influențează neuroplasticitatea, supraviețuirea celulară și neurogeneza în unele zone ale creierului. Pe această cale de semnalizare se modulează transcripția genică via  $\beta$ -catenin.

Wnt

- Anomaliile ale căii Wnt au fost implicate în patofiziologia unor boli cronice medicale cum ar fi cancerul și mai recent și în tulburările afective recurente severe cum este TAB. Proteinele Wnt se leagă de un complex de receptori transmembranari de tip proteina G (Frizzeld), care activează proteinele citoplasmatiche Dvl sau Dsh (Disheveld) care inhibă enzima GSK-3 $\beta$ .

Wnt

- Prin inhibarea GSK-3 $\beta$  nu mai este degradată  $\beta$ -catenina și aceasta se acumulează în citozol, migrează spre nucleu, unde stimulează factorii de transcripție Tcf (T-cell transportor factor) și Lef (Lymphoid enhancer binding protein). Acești factori activează transcripția genelor țintă, cu diferite acțiuni, cum ar fi: prevenția apoptozei, stimularea creșterii în dimensiuni ale neuronilor, dezvoltare celulară, stres oxidativ și inflamația.

Wnt

- Existența unei disfuncții a căii de semnalizare Wnt în TAB este susținută de studiile experimentale pe animale, studii de farmacologie și de genetică umană. Astfel, inactivarea genei Wnt la șoarece a avut ca efect dezvoltarea defectuoasă a unor mari porțiuni din creier, iar stimularea genei Wnt a crescut neurogeneza în hipocamp. Matigian și colab. (2007) au raportat diferențe în expresia Wnt la gemenii monoziagoți discordanți pentru TAB. Una dintre acestea a fost Tcf-7 (factor de transcripție activat de  $\beta$ -catenin).

Wnt

- Zandi și colab. (2008) au testat într-un studiu familial asocierea dintre genele candidat din calea Wnt și susceptibilitatea pentru TAB. Autorii au găsit o asociere cu TAB a genei PPARD, localizată pe cromozomul 6p21. Genele PPARD encodează receptorii PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptor), care mediază variate procese celulare biochimice, incluzând funcția peroxismală, oxidarea și sinteza lipidelor, proliferarea celulară și inflamația.

Wnt

- Dacă PPARD influențează susceptibilitatea pentru TAB, aceasta se realizează prin procesele neurodevelopmentale. Gena PPARD este o țintă a căii Wnt- $\beta$ -catenin și singura implicată în mecanismul de acțiune al medicației din TAB. Calea Wnt interacționează atât cu factorii neurotrofici (BDNF) cât și cu mediatorii stresului oxidativ și al inflamației, interacțiuni implicate în menținerea echilibrului dintre supraviețuire și apoptoza celulară. Factorul neurotrofic BDNF necesită prezența  $\beta$ -cateninei pentru a-și exercita efectele.

Wnt

- Disfuncția căii Wnt în acest context poate să scadă nivelul BDNF, fapt ce a fost raportat de numeroase studii care au evaluat nivelul periferic al acestui factor. Interrelația sistemului Wnt cu citokinele și markerii oxidativi sunt complexe cu efect de autopotențare care are și efect proapoptotic . La subiecții cu TAB unele studii au raportat nivele periferice crescute ale mediatorilor inflamației (interleukine și factori tumorali de necroză), alte studii nivele periferice crescute ale markerilor oxidativi (theobarbituric reactive substance și oxid nitric).

Wnt

- Aceste date coroborate indică existența unui efect neurotrofic și antiapoptotic al interrelației Wnt-BDNF dar și un efect de modulare proapoptotic și antiapoptotic al interrelației cu mediatorii inflamatori și markerii oxidativi având în vedere relația de autopotențare dintre aceștia, cu instalarea unor circuite de feed-back complexe. Existența unui dezechilibru în aceste interrelații se poate presupune că este implicat în patofiziologia tulburărilor afective.

Wnt